

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DOCTORADO EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**OBTENCIÓN DE HUEVOS DE GALLINAS PARA CONSUMO
DE CALIDAD DIFERENCIADA, INCREMENTANDO
LA PROPORCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3
Y REDUCIENDO EL CONTENIDO DE COLESTEROL**

**TESISTA: MSc. MÉD. VET. ALEJANDRA E. ANTRUEJO.
DIRECTOR: DR. MÉD. VET. MARCELO R. ROSMINI.
CO-DIRECTORES: D.E.A. ING. AGR. JORGE O. AZCONA.
MSc. LIC. AGR. MARCELO J. SCHANG.**

2010.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	2, 3, 4 y 5
ÍNDICE DE TABLAS	6 y 7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DEL ANEXO	9
ABREVIATURAS	10
1- RESUMEN	13
2- SUMMARY	18
3- INTRODUCCIÓN	23
4- OBJETIVOS	28
5- MARCO TEÓRICO	30
5.1- Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la gallina. Formación del huevo	32
5.2- Clasificación química de los lípidos	40
5.3- Metabolismo de los lípidos en las gallinas	61
5.3.1- Componentes y composición química del huevo	61

5.3.2- Variación en la composición del huevo	67
5.3.3- Síntesis e incorporación de la grasa en la yema del huevo	71
5.3.4- Modificación del contenido de colesterol en huevo	75
5.3.5- Modificación del perfil lipídico del huevo	79
5.4- Acción biológica e importancia biomédica de los ácidos grasos	86
5.4.1- Recomendaciones dietéticas de n-3	86
5.4.2- Fuentes de ácidos grasos n-3	97
6- MATERIALES Y MÉTODOS	103
7- RESULTADOS	113
7.1- Resultados zootécnicos	115
7.2- Resultados de la calidad del huevo	124
7.2.1- Calidad externa del huevo	124
7.2.2- Calidad interna del huevo	127
7.3- Resultados de las determinaciones analíticas	129
7.3.1- Perfil de ácidos grasos en huevo	129
7.3.2- Ácidos grasos agrupados y relación n-6/n-3	135

7.3.3- Contenido de n-3 y n-6 en yemas de huevos -----	139
7.3.4- Perfil del colesterol en huevo -----	142
8- DISCUSIÓN -----	144
8. 1- Parámetros zootécnicos -----	145
8.2- Calidad del huevo -----	147
8. 3- Contenido y composición de ácidos grasos y colesterol en yema de huevos -----	149
9- CONCLUSIONES -----	157
10- BIBLIOGRAFÍA -----	160
11- ANEXO -----	184
12- AGRADECIMIENTOS -----	190

ÍNDICE DE TABLAS

1- Formación del huevo de gallina -----	38
2- Ácidos grasos saturados -----	51
3- Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica -----	52 y 53
4- Composición química del huevo: cáscara -----	64
5- Composición química del huevo: albúmina -----	65
6- Composición química del huevo: yema -----	66
7- Distribución de los tratamientos -----	105
8- Dietas experimentales -----	106
9- Respuesta de la EMV en los tres períodos -----	119
10- Respuesta zootécnica durante el período 1 -----	120
11- Respuesta zootécnica durante el período 2 -----	121
12- Respuesta zootécnica durante el período 3 -----	122
13- Respuesta zootécnica en los tres períodos -----	123
14- Calidad de la cáscara del huevo según la edad de las aves-----	124

15- Calidad de la cáscara del huevo según los días de almacenamiento-----	125
16- Calidad de la cáscara del huevo según los diferentes tratamientos-----	126
17- Calidad interna del huevo, medida según el tiempo de almacenaje y período evaluado en Unidades Haugh -----	128
18- Composición de ácidos grasos en yemas de huevos producidos por gallinas, alimentadas con distintas fuentes de lípidos durante el primer período -----	133
19- Composición de ácidos grasos en yemas de huevos producidos por gallinas, alimentadas con distintas fuentes de lípidos durante el tercer período-----	134
20- Contenido de AGPI n-3 y n-6 en huevos, producidos por gallinas alimentadas con diferentes dietas durante el primer período-----	137
21- Contenido de AGPI n-3 y n-6 en huevos, producidos por gallinas alimentadas con diferentes dietas durante el tercer período-----	138
22- Composición de ácidos grasos en yemas de huevos de gallinas durante el primer período-----	140
23- Composición de ácidos grasos en yemas de huevos de gallinas durante el tercer período-----	141
24- Composición de colesterol en yemas de huevos de gallinas, alimentadas con distintas dietas, durante el primer y tercer período-----	143

ÍNDICE DE FIGURAS

1- Estructura del huevo de gallina	32
2- Aparato reproductor de la gallina	39
3- Estructura química del ácido esteárico	47
4- Estructura química del ácido oleico	47
5- Estructura química del ácido linoleico	48
6- Estructura química del ácido linolénico	48
7- Estructura química del colesterol	56
8- Conversión de los AGPI de cadena larga en los tejidos animales	74

ÍNDICE DEL ANEXO

TABLAS

- I- Perfil nutricional de las semillas de lino, colza, chía y expeller de chía ----- 185
- II- Ingredientes y composición nutricional calculada para las dietas de gallinas
en el período 1 ----- 186 y 187
- III- Ingredientes y composición nutricional calculada para las dietas de gallinas
en los período 2 y 3 ----- 188 y 189

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

ACAT	Acil- CoA-colesterol acil transferasa
Acetil CoA	Acetil coenzima A
AGAO	Aceite de girasol alto oleico
AGE	Ácidos grasos esenciales
AGI	Ácidos grasos insaturados
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
ALA	Ácido alfa linolénico
CA	Conversión alimenticia
DHA	Ácido docosahexaenoico
DGLA	Ácido dihomo- γ -linolénico
EMV	Energía metabolizable verdadera
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FSH	Hormona folículo estimulante
G	Gramo
GSH	Glutation reducido
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HMG CoA	Hidroximetilglutaril coenzima reductasa
Hu	Unidades Haugh
LCAT	Lecitin-acil colesterol transferasa

LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LH	Hormona luteinizante
LPL	Lipoprotein lipasa
Mg	Miligramo
N-3/ n-3	Omega-3 o ácido linolénico
N-6/ n-6	Omega-6 o ácido linoleico
N-9/ n-9	Omega-9 o ácido oleico
NK	Células asesinas
OE	Oxisteroles
PUFA	Acids fatty polynsaturated
SNC	Sistema nervioso central
TBA	Ácido tiobarbitúrico
T1	Tratamiento 1 (semilla de lino)
T2	Tratamiento 2 (semilla de colza)
T3	Tratamiento 3 (semilla de chía)
T4	Tratamiento 4 (expeller de chía)
T5	Tratamiento 5 (aceite de lino)
T6	Tratamiento 6 (aceite de chía)
T7	Tratamiento 7 (aceite RCR)
T8	Tratamiento 8 (aceite AGAO)
T9	Tratamiento 9 (aceite soja)
T10	Tratamiento 10 (cobre tribásico)
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

1- RESUMEN

RESUMEN

El huevo de gallina es un producto de la actividad avícola cuya comercialización como tal, sin ningún tipo de procesamiento ulterior, le otorga la característica de "commodities". La posibilidad de incorporar valor agregado a este producto permitiría incrementar su precio de venta, entrando en los circuitos de consumo de las denominadas "specialties".

Muchos estudios científicos identificaron y caracterizaron los componentes del huevo demostrando que son muy importantes como fuente de nutrientes en la dieta humana. Numerosas actividades biológicas han sido asociadas a éstos, incluyendo actividades antibacterianas, antivirales, inmunomoduladoras y anticancerosas; indicando la importancia de los mismos en la salud humana, en la prevención y tratamiento de enfermedades.

Entre dichos componentes, se encuentran las grasas con sus ácidos grasos, cumpliendo un rol de gran relevancia. Ya se conoce que, existe una asociación entre el consumo de ácidos grasos saturados y la incidencia de trastornos cardiovasculares en seres humanos; habiéndose reportado al ácido linolénico ($C_{18:3\ n-3}$) como indispensable para el desarrollo de cerebro en ratas; y que el consumo de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, en particular el ácido eicosapentanoico ($C_{20:5\ n-3}$) y el docosahexaenoico ($C_{22:6\ n-3}$) han mostrado tener efectos benéficos sobre la salud humana.

Se ha demostrado también que el consumo de huevos con mayor contenido en ácidos omega-3 permite reducir el riesgo de aterosclerosis y ataques cardíacos, al tiempo de producir estímulos en el desarrollo neonatal del cerebro y la retina.

Existe también evidencia que el desbalance en la relación omega-6/omega-3 es un factor de riesgo mayor para enfermedades cardiovasculares, cerebro-vasculares, cáncer y reacciones alérgicas. Los ácidos grasos omega-6 y omega-3 compiten por las mismas enzimas pero tienen diferentes roles biológicos, por lo que un correcto balance entre ellos es de considerable

importancia. Las dietas occidentales son deficientes en omega-3 y altas en omega-6; entonces, se recomienda incrementar la ingesta de los primeros.

Los animales no pueden sintetizar estos ácidos grasos, por lo que son considerados como esenciales y deben proporcionarse en la dieta.

El objetivo de este trabajo fue modificar la composición lipídica de los huevos, mediante programas específicos de alimentación de las gallinas, lo que permitió incorporar valor agregado a los mismos favoreciendo una diferenciación en aspectos de calidad relacionados con la salud humana.

En la sección Avicultura del INTA Pergamino se realizó una experiencia utilizando 480 pollas Shaver Brown alojadas a razón de dos aves por jaula.

Cada tratamiento contó con 4 réplicas de 12 aves cada una distribuidos en bloques aleatorizados. La experiencia se inició a las 24 semanas de vida de las aves y tuvo una duración de 3 períodos de 28 días cada uno.

Se evaluó el efecto del agregado a la dieta de diferentes fuentes de ácidos grasos omega-3 de origen vegetal, solas o en combinación con aceite de girasol alto oleico, sobre el contenido de ácidos grasos en huevos. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

- 1. Lino semilla (15 %) + AGAO (1,5 %) ***
- 2. Colza semilla (25 %) + AGAO (1,5 %)**
- 3. Chía semilla (25 %) + AGAO (1,5 %) ****
- 4. Chía expeller (25 %) + AGAO (1,5 %)**
- 5. Lino aceite (6%)**
- 6. Chía aceite (6%)**
- 7. Aceite comercial RCR 18% omega-3 (6%) *****
- 8. Control maíz -soja + AGAO (1,5%)**
- 9. Control maíz -soja - Aceite Soja**
- 10. Cobre tribásico ******

* AGAO: aceite de girasol alto oleico, DOW Argentina. SA

** Chía: *Salvia hispánica*

*** Aceite RCR de GEZA ECKSTEIN SA (contenido omega-3 mínimo 18%)

**** *PORFENC S.R.L.*

En base a estas materias primas se formularon dietas diseñadas para producir huevos con niveles más altos de ácidos grasos poliinsaturados del tipo omega-3, mayor contenido de ácidos grasos monoinsaturados y con menor contenido de colesterol.

El reemplazo de aceite de soja por aceite de girasol alto oleico, permitió aumentar los ácidos grasos monoinsaturados y disminuir los ácidos grasos poliinsaturados, contribuyendo a lograr una mejor conservación en góndola.

La inclusión de semilla de lino permitió aumentar la proporción de ácidos grasos omega-3 y disminuir la relación omega-6 / omega-3 por debajo de 4, nivel recomendado desde un punto de vista médico.

Con la inclusión de cobre tribásico se pretendió reducir el nivel de colesterol.

De esta manera, el desarrollo de huevos ricos en omega-3 cubriría la creciente demanda de los consumidores, que buscan alimentos que ofrezcan mayor protección para la salud y beneficios terapéuticos.

Estos productos, diferenciados por su mejor calidad nutricional y con ventajas para la salud humana, tienen un valor comercial superior a los tradicionales, brindando oportunidades de mercado a las empresas que los produzcan.

En el presente estudio además del perfil de ácidos grasos en materias primas y huevos, se midieron variables relacionadas a la respuesta zootécnica: postura (%/ ave/ día); consumo de alimento (promedio de cada período de 28 días); peso del huevo (g) tomando una muestra al finalizar cada período; y la mortalidad. Con esta información se calculó la masa de huevo/ ave/ día y la conversión alimenticia.

También se estudió la calidad interna (Unidades Haugh) y externa (mg/cm^2 de cáscara) del huevo.

En general, la respuesta zootécnica obtenida con las distintas dietas fue superior a la que se registra en condiciones prácticas, con niveles de postura superiores al 97%. Este resultado brinda confiabilidad respecto al aporte de nutrientes de las distintas dietas. No obstante, hubo algunas diferencias respecto del control.

Con semillas de lino, colza y chía se observó un aumento en la conversión por kg de huevo. Con los distintos aceites no se observaron diferencias respecto del control.

La calidad interna y externa del huevo disminuyó con la edad del ave sin que se observen efectos adversos de los tratamientos en calidad interna. La calidad de cáscara se vio afectada en el caso de los tratamientos con semillas de colza, chía y expeller de chía.

Con los niveles más altos de inclusión de las distintas fuentes de omega-3 fue posible modificar el perfil de ácidos grasos en huevo, lográndose un aumento en el contenido de omega-3 de hasta 8 veces respecto del control, utilizando semilla de chía (1,4% a 11.3%). Con la combinación aceite de girasol alto oleico y semilla de colza, el contenido de ácidos grasos monoinsaturados se incrementó 1,4 veces (36.6% a 49.9%). Por otra parte se logró una reducción de la relación omega-6/omega-3 (de 9.36 a 1.56) al incluir semilla de chía.

El uso de cobre tribásico permitió una leve disminución (no significativa) del nivel de colesterol.

2- SUMMARY

SUMMARY

Hen egg is a product of poultry activity and its commercialization without any ulterior processing gives it the characteristic of “commodities”. The possibility of incorporating added value to this product would allow to increase its selling price by entering to the consumption circuits as “specialties”.

Many scientific studies identified and characterized egg components by showing them as a very important nutrient source in the human diet. Numerous biologic activities have been associated to them, including anticancer, immunomodulating, antiviral and antibacterial ones and indicating the importance of them in human health in the prevention and treatment of diseases.

Fats are found among these components with their fatty acids playing a role of great relevance.

It is already known that there is an association between the consumption of saturated fatty acids and the incidence of cardiovascular problems in human beings, linolenic acid has been reported as indispensable for the development of brain in rats; and the ingest of polyunsaturated omega-3 fatty acids, particularly eicosapentaenoic and docosahexaenoic, has proven to be beneficial in human health.

It has also been shown that ingest of omega-3 acid enriched eggs makes possible to reduce the atherosclerosis risk and heart attacks and to produce stimuli in the neonatal development of brain and retina.

There is also evidence that the imbalance in omega-6: omega-3 relation is a higher risk factor for, cardiovascular and cerebrovascular diseases, cancer and allergic reactions.

Omega-6 and omega-3 fatty acids compete for the same enzymes but they have different biologic roles, so, it is of considerable importance to have a correct balance between them. Western diets are deficient in omega-3 and higher in omega-6, so, it is recommended to increase the ingest of the former.

Animals can not synthesize these fatty acids they are considered as essential and must be added to the diet.

The aim of this work was to modify the egg lipidic composition by means of hen feeding specific programs which allowed to incorporate added value to them favouring a differentiation in quality aspects related to human health. An experience was carried out in INTA Pergamino Poultry Section by using 480 Shaver Brown pullets housed by pairs per cage.

Each treatment consisted of four replications of 12 birds each distributed in randomized blocks. The experience began when birds were 24 week-old and had a duration of four periods of 28 days each one.

The adding effect of different sources of vegetal origin omega-3 fatty acids alone or in combination with high oleic sunflower oil was evaluated on the content of fatty acids in eggs.

The evaluated treatments were the following:

1. Flax seed (15%) + HOSO (1.5%)*
2. Colza seed (25%) + HOSO (1.5%)
3. Chia seed (25%) + HOSO (1.5%) **
4. Chia expeller (25%) + HOSO (1.5%)
5. Flax oil (6%)
6. Chia oil (6%)
7. Omega-3 commercial oil 18% (6%) ***
8. Control: Maize-Soybean+HOSO (1.5%)
9. Control: Maize-Soybean-Soybean oil
10. Tribasic copper ****

*HOSO: High Oleic Sunflower Oil, DOW Argentina, SA

**Chia: *Salvia hispanica*

***RCR oil from GEZA ECKSTEIN SA (Minimum omega-3 content: 18%)

****PORFENC SRL

According to these raw materials, designated diets to produce eggs with higher levels of type omega-3 unsaturated fatty acids, a higher content of monounsaturated fatty acids and a lower cholesterol content were formulated.

Replacing soybean oil by high oleic sunflower oil allows to increase monounsaturated fatty acids and to decrease polyunsaturated fatty acids contributing to reach a better conservation in market gondoles.

The inclusion of flax seed allows to increase the n-3 fatty acids rate and to decrease the omega-6/omega-3 relation under 4, which is the recommended level from a medical point of view.

It is pretended to reduce cholesterol level by including tribasic copper.

From this way, the development of omega-3 enriched eggs would cover the increasing demand of consumers looking for food which offers a higher protection in health and therapeutic benefits.

These products differentiated by their best nutritional quality and with advantages for human health have a higher commercial value over traditional ones, giving market opportunities to small and median enterprises producing them.

In the present study, in addition to fatty acid profile in raw materials and eggs, related variables to zootechnical response were evaluated: egg laying (%/bird/day); feedstuff consumption (mean of each 28-day period); egg weight (g) by taking a sample when each period finished; and mortality. Egg mass/bird/day and feed conversion were calculated with this information.

Internal (Haugh Units) and external (mg/cm^2 of egg shell) qualities were studied.

In general, the zootechnical response obtained with different diets was higher than that registered in practical conditions with laying levels higher than 97%. This result gives reliability in respect to the nutrient contribution of the different diets. However, there were some differences in respect to the control.

An increase in conversion per egg kilogram was observed using flax, colza and chia seeds. Differences were not observed with the different oils in respect to the control ones.

The internal and external egg quality decreased with bird age without observing adverse effects on internal quality treatments. Shell quality was affected in treatments using colza and chia seeds and chia expeller.

It was possible to modify fatty acid profile in eggs with higher inclusion levels of the different n-3 sources, obtaining an eight-fold increase in respect to the control ones by using chia seed (from 1.4% to 11.3%). Using high oleic sunflower oil and colza seed combination polyunsaturated fatty acids content increased 1.4 fold (from 36.6% to 49.9%). On the other hand, a decrease in n-6: n-3 relation (from 9.36 to 1.56) was obtained by including chia seed.

The use of tribasic copper allowed a slight decrease in cholesterol level.

3- INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

A medida que los ingresos económicos de la población y la urbanización aumentan, se incrementa el consumo en cantidad y variedad de los productos de origen animal.

En los últimos años, ha crecido considerablemente el interés de los consumidores por conocer la relación entre los alimentos y la salud; debido a que reconocen que llevar un estilo de vida sano, incluida la dieta, puede contribuir a reducir el riesgo de padecer enfermedades y dolencias y a mantener el estado de salud y bienestar (Silveira-Rodríguez *et al.* 2003).

Inicialmente la función de la dieta era aportar los nutrientes en cantidad suficiente para satisfacer las necesidades básicas de las personas. No obstante, existen cada vez más pruebas científicas que apoyan la hipótesis de que ciertos alimentos, es decir, algunos de sus componentes, influyen de manera clara en el estado de salud, e incluso pueden mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades (Castro-González, 2002).

En este sentido los objetivos en el ámbito de nutrición han cambiado. La cantidad y composición de los lípidos de los productos animales han adquirido gran significación para el consumidor, debido a que la mayor parte de la grasa de su dieta proviene de ellos y por las consecuencias que su consumo tiene sobre la salud humana.

Los ácidos grasos (AG) de la dieta tienen un profundo efecto sobre la concentración de los lípidos y lipoproteínas de la sangre. Algunos de ellos son considerados factores de riesgo para varias enfermedades que se observan en las sociedades desarrolladas. Carrero *et al.* (2005) hace mención a estudios epidemiológicos y de intervención nutricional, indicando que el consumo de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 de cadena larga, producen cambios en variables homeostáticas asociadas a efectos beneficiosos para la salud.

Según los Comités Internacionales de Nutrición y Alimentación (FAO/OMS, 2003) han establecido que las grasas en general no deberían

aportar más de un 30% de las calorías totales que consume un adulto. Recomendando que la distribución de consumo de los distintos tipos de AG en ese 30% total, corresponda a un aporte del 10% de ácidos grasos saturados (AGS); un 10% de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y un 10% de AGPI, con una relación 1:1:1. Además, dentro de los AGPI, la relación de omega-6/omega-3 (n-6/n-3) actualmente, debería ser de 5:1 a 10:1 (Rozowski Narkunska, 2007).

Podría decirse que prácticamente ningún aceite en su estado puro se aproxima a las recomendaciones nutricionales propuestas; ya que algunos presentan un alto contenido de AGS, otros de AGMI, y muy poco o nada de AGPI. También hay aceites que aportan AGPI n-6 y casi nada de n-3.

Por su parte Valenzuela y Garrido (2000); Valenzuela (2002), destacan que los aceites y grasas son las materias primas con mayor aporte energético, pero que en su origen no están constituidas solamente por mezclas de triglicéridos; sino que forman parte de su composición una gran variedad de otros componentes, técnicamente identificados como la “fracción insaponificable” y que está formada por una mezcla heterogénea de esteroides, tocoferoles, carotenoides, flavonoides, entre otros, sustancias a las cuales se les ha descrito numerosos efectos positivos desde el punto de vista de la nutrición y de la salud humana.

Las personas conscientes del cuidado de su salud han comenzado a reducir el nivel de grasas en las dietas. No obstante, cabe aclarar que no se debe eliminar por completo la grasa de la dieta dado que, además de ser una fuente importante de energía, también es una fuente de ácidos grasos esenciales (AGE). Entre éstos se encuentran los AG n-6 y n-3 que deben ser incorporados en la dieta. El organismo de los animales tiene la capacidad de convertir el n-6 en ácido araquidónico por lo que este último a menudo se considera un AGE o semi esencial siempre y cuando la dieta sea deficiente en n-6. Algunos animales, como los gatos, no pueden convertir el n-6 en araquidónico, por lo tanto también es esencial en la dieta de estos animales.

Las plantas sintetizan n-6 y n-3, no así las células animales. Los peces, que tienen altos contenidos de AG n-3, tampoco pueden sintetizar estos AGE;

obteniéndolos a partir de plantas marinas, así como otros animales lo obtienen al comer plantas terrestres.

Los n-6, n-3 y araquidónico son AGPI. Su doble ligadura en las estructuras es la que los hace biológicamente activos, lo que quiere decir que se utilizan en el organismo para funciones muy importantes, en lugar de que sólo sirvan como fuente de energía para las células. Mientras que los AGS solo sirven como fuente de energía y no pueden funcionar como AGE.

El ácido graso alfa-linolénico (ALA) no puede sintetizarse *de novo* y es por eso que es llamado AGE, pero en cambio el ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) pueden formarse a partir del ALA. Los seres humanos de cualquier edad, incluso desde mucho antes del nacimiento, convierten el ALA en DHA (Billeaud *et al.* 1997; Brenna, 2002).

Ayerza y Coates (2000) también observaron este proceso en otras especies; sin embargo, la eficiencia de esta conversión dentro de la especie (dependiendo de la edad) y entre otras especies, es hoy tema de controversia, generando una fuerte discusión (Simopoulos, 2002). Por tal motivo, se está buscando la manera más conveniente de proveer AG n-3 tanto a hombres como a animales. El principal punto de discusión se produjo por el escaso conocimiento científico disponible sobre las funciones bioquímicas y fisiológicas de los AG n-3 en general, y del ALA en particular.

Lauritzen *et al.* (2001) ha descrito que la aceptación general de que la función del ALA era tan sólo ser un precursor de los AGPI de cadena larga, y el hecho de que los primeros estudios epidemiológicos se realizaran en poblaciones que comían gran cantidad de pescado, fueron los responsables principales de una subestimación temprana del ALA.

Sin embargo, (Li *et al.* 1999) muestra que los recientes resultados de estudios epidemiológicos y controlados sobre el rol biológico del ALA en las personas y en los animales, están cambiando el escenario de las fuentes de n-3; la evidencia surge al observar a los vegetarianos que no sufren problemas con las dietas que no contienen DHA, apoyando estos cambios de opinión.

En las últimas décadas una parte importante de la investigación en el ámbito de la nutrición animal se ha dirigido a mejorar el valor nutritivo de sus

productos para ofrecerlo al consumidor de acuerdo a sus necesidades, con valor agregado y mayor vida útil, como la incorporación de AG entre otros. Es así que, por medio de la manipulación de la dieta de gallinas ponedoras se pueden diferenciar los huevos con estos AGE; considerando la importancia del huevo de gallina ya que es un alimento económico, de alto valor biológico, consumo y aceptación.

En la presente Tesis Doctoral y bajo la hipótesis de la factibilidad de modificar el perfil de los lípidos en el huevo a través de la alimentación de las gallinas, se estudió:

- La caracterización química (análisis proximal, contenido de energía, aminoácidos y perfil de AG) y biológica (energía metabolizable) de diferentes materias primas de origen vegetal ricas en AGPI n-3 y/o AGMI.

- El efecto de diferentes dietas sobre la composición lipídica de los huevos. Para tal fin se realizó un ensayo con aves ponedoras comerciales, las cuales fueron sometidas a diferentes tratamientos dietarios en los que se pudo evaluar el máximo nivel de inclusión de las distintas fuentes de n-3 seleccionadas.

Este trabajo permitirá avanzar en el conocimiento de aspectos relacionados con el metabolismo lipídico de las aves.

A su vez, la obtención de huevos de gallina, diferenciados por su mejor calidad nutricional, inducirá a conquistar nuevos mercados; así como también, favorecer las características deseables para la salud humana.

4- OBJETIVOS

OBJETIVOS

4.1- OBJETIVO GENERAL

- Modificar el perfil lipídico de los huevos, a partir de dieta de las gallinas, con el fin de aumentar su valor agregado y diferenciarlo de las “comodities”.

4.2- OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el efecto de distintas fuentes de AG n-3 de origen vegetal (semillas, aceites o harinas) al máximo nivel de inclusión posible, sobre la respuesta zootécnica de las aves, la calidad externa e interna de los huevos y la composición lipídica de los mismos.
- Evaluar el uso de aceite de girasol alto oleico como alternativa para incrementar la presencia de AGMI y reducir la relación n-6/n-3.
- Evaluar el efecto de la inclusión de cobre tribásico en la dieta de la gallina sobre el contenido de colesterol en huevos.

5- MARCO TEÓRICO

MARCO TEÓRICO

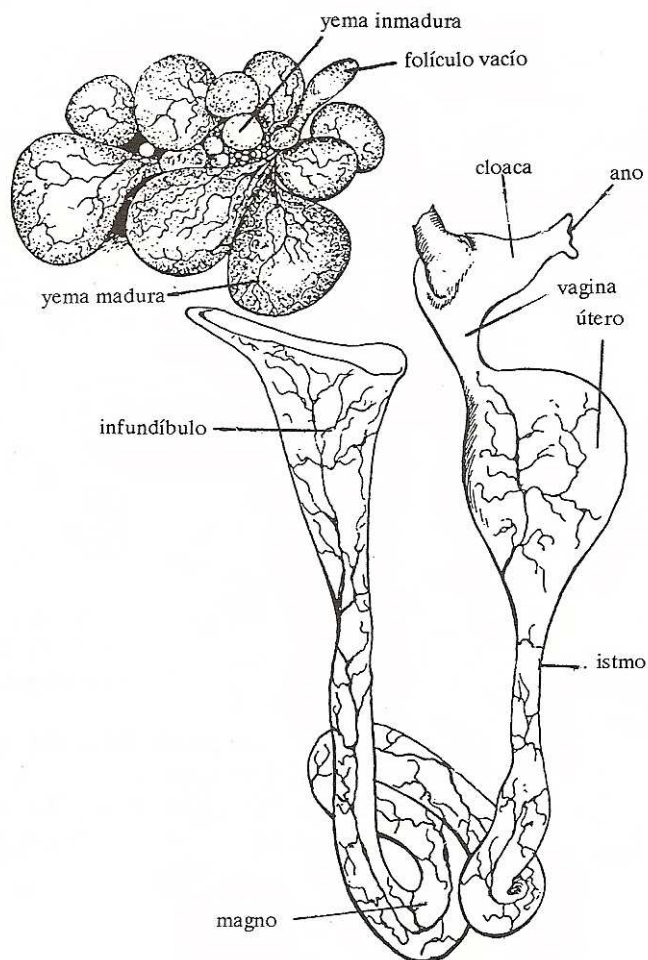
Con esta revisión bibliografía se pretende aclarar, relacionar e integrar a todos y cada uno de los componentes de este trabajo, para ello se los presenta en el siguiente orden:

- 5.1- Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la gallina y formación del huevo.
- 5.2- Clasificación química de los lípidos.
- 5.3- Metabolismo de los lípidos en las gallinas.
- 5.4- Acción biológica e importancia biomédica de los ácidos grasos.

5.1- ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA GALLINA Y FORMACIÓN DEL HUEVO

A continuación, se hace una breve reseña del aparato reproductor de la gallina (figura 1), y su evolución hasta el momento en que comienza a producir huevos.

Figura 1. Aparato reproductor de la gallina



➤ OVARIO

El ovario de una gallina adulta, tiene aproximadamente 1,2 - 3,4 cm de longitud; 0,8 - 2,2 cm de ancho y 0,35 - 1 cm de alto.

Durante el desarrollo embrionario, hacia el 7^{mo} a 9^{no} día de incubación, están perfectamente formados los esbozos de los dos ovarios, pero en las aves domésticas solo se desarrollará el ovario y oviducto izquierdo, mientras que el derecho no llega a desarrollarse y permanece rudimentario, se atrofia.

A la edad de cuatro a seis meses, el ovario izquierdo entra en actividad, período en que la gallina alcanza la madurez sexual, esto ocurre cuando pone su primer huevo.

Cuando nace la pollita bebé (BB), sus ovarios son pequeños, con una zona medular y otra cortical con numerosos ovocitos poco desarrollados, disminuyendo a 1.100 - 1.600 en la gallina adulta.

Durante los dos a tres meses siguientes, los folículos aumentan progresivamente de tamaño; de tal forma que 10 días antes de la primera puesta, toda una serie de folículos ha experimentado un considerable aumento de volumen. Esta evolución acelerada es consecuencia de un incremento en la producción de FSH (hormona folículo estimulante) segregada por el lóbulo anterior de la hipófisis.

El ovocito está rodeado por una membrana folicular ricamente vascularizada. Esta membrana está encargada de producir el vitelo acumulado por el ovocito en el curso de su desarrollo.

En consecuencia, la actividad del ovario se inicia generando las hormonas: estrógenos, progesterona y testosterona; y aumentando el tamaño del folículo por la FSH.

Los altos niveles de estrógeno en sangre, estimulan al hígado para la formación de proteínas y lípidos para la yema.

También aumenta el tamaño del oviducto, preparándolo para la producción de proteínas y de la albúmina, membranas de la cáscara y la cutícula (membrana del huevo).

El material de la yema, se produce en el hígado y llega al folículo por la sangre. Después de 1 a 2 días se inicia la formación de la segunda yema, y así sucesivamente hasta que hay 5 -10 yemas en formación, momento en el cual se produce la primera oviposición. Es decir que se precisan de 8 a 10 días para que madure la yema. La yema se forma en capas concéntricas claras y oscuras: de 8 a 10 (vitelo blanco y amarillo) que corresponde a los períodos de ingesta de alimentos (carotenos de la dieta).

Desde el comienzo del período de crecimiento, la pared del folículo ovárico presenta ya una zona menos vascularizada cuyo espesor disminuye progresivamente. A este nivel es donde se produce la dehiscencia folicular.

➤ OVULACIÓN

Es el proceso por el cual se desprende el óvulo para entrar al oviducto.

El óvulo está suspendido del ovario, por un tallo que contiene una arteria que lleva la sangre para la formación de la yema.

Esa arteria se ramifica en la membrana superficial de la yema, excepto en el estigma, que es avascular. Una vez maduro el óvulo, se produce progesterona que estimula la liberación de LH (hormona luteinizante) que causa la ruptura del estigma, y el desprendimiento del óvulo.

En la ovulación influyen los sistemas nerviosos y hormonales. A los 15 a 40 minutos después de la primera oviposición, la gallina vuelve a ovular.

A los cinco minutos siguientes a la ruptura del folículo maduro; el óvulo es captado por el infundíbulo del oviducto, lugar donde se produce la fecundación. En caso de caer en la cavidad abdominal, se reabsorbe.

➤ OVIDUCTO

Es un tubo a través del cual pasa la yema, lugar donde se secretan las partes restantes del huevo. Normalmente es de diámetro relativamente corto, pero con la aproximación de la primera ovulación se expande en tamaño y grosor.

A) INFUNDÍBULO (o Trompa)

Es la parte superior del oviducto y tiene forma de embudo. El tamaño aproximado del órgano funcionando es de 9 cm.

Normalmente es inactivo, excepto inmediatamente después de la ovulación, en donde, alcanza y engloba o capta a la yema para hacerla entrar en el oviducto.

La yema sólo permanece 15 minutos aquí, luego a través de contracciones del oviducto sigue su camino.

Además, este es el único lugar donde se produce la fecundación.

B) MAGNUM

Es la parte del oviducto que secreta la albúmina, su longitud en una ponedora es de 33 cm y su paso por el mismo es de 3 horas aproximadamente.

La albúmina esta compuesta por: chalazas 2,7% - albúmina fluida 17,3% - albúmina densa 57,0% - albúmina fluida 23,0%.

Las chalazas, son dos cordones entrelazados y se extienden hacia los polos opuestos de la yema a través de la albúmina. Su función es la de mantener la yema en el centro del huevo, después de la postura.

La albúmina es una sustancia compuesta por agua y proteínas: globulinas y mucina en mayor o menor concentración según sea densa o fluida. Su función es de nutrición y protección antibacteriana en el embrión.

C) ISTMO

Es un tramo corto de 10 cm de longitud, donde el huevo permanece aproximadamente una hora y cuarto. Es aquí donde se le da la forma final al huevo ya que las membranas interna y externa se forman de una manera peculiar.

Estas membranas testáceas (o fáfarras) están compuestas por fibras de proteínas, e íntimamente unidas hasta el momento de la oviposición, en que los materiales líquidos internos del huevo se contraen al enfriarse éste.

La temperatura del huevo en la oviposición es de aproximadamente 41 °C (la de la gallina) al entrar en contacto el huevo con el medio ambiente (más fresco) sufre dicha retracción, que generalmente ocurre en el polo mayor del huevo, dando origen a la cámara de aire; el tamaño de ésta variará con la edad del huevo; recién puesto es de unos 2 a 4 mm; pero si el huevo se almacena por mucho tiempo puede alcanzar varios cm y permite estimar el grado de envejecimiento del huevo. Esta cámara cumplirá una función esencial en el desarrollo embrionario entre los días 18 a 21, período en el cual se produce el cambio de la respiración corioalantoidea a pulmonar.

Las membranas de la cáscara o testáceas, actúan como barrera para evitar la penetración de microorganismos externos como bacterias, virus, hongos, etc. También previenen la evaporación rápida y protegen el contenido del huevo.

D) ÚTERO o glándula del cascarón

Tiene una longitud de 10 a 12 cm y el huevo permanece allí entre 18 a 21 horas aproximadamente.

También es llamada cámara calcífera, ya que cuando el huevo penetra acá, todavía está rodeado por las membranas testáceas, de consistencia laxa; si bien en el istmo comienzan a aparecer pequeñas agrupaciones de calcio; es aquí en la cámara calcífera donde comienzan a depositarse sales de carbonato de calcio en forma de cristales de cadena larga, mientras más largas las columnas, mayor será la dureza de la cáscara.

Está formada por dos capas: una interna o mamilar que está constituida por cristales y a su vez, da origen a la capa externa o esponjosa que es delgada y blanca. El cascarón completo (color yeso) está compuesto casi enteramente por carbonato de calcio (CaCO_3) con pequeños depósitos de K^+ , Na^+ y Mg^+ .

El calcio para el cascarón del huevo, se obtiene principalmente de la alimentación y también en menor medida de los huesos medulares (reserva corporal de Ca^{++}) durante la noche cuando el ave no come y continúa la deposición de calcio. El carbonato de calcio en el cascarón se forma cuando se aportan los iones de calcio a través de la irrigación sanguínea, mientras que los iones de carbonato provienen de la sangre y de la glándula del cascarón. Cualquier factor que reduzca el aporte sanguíneo interferirá al máximo con los depósitos de Ca CO_3 en el cascarón del huevo, que dará como resultado cáscaras de mala calidad, (North, 1993).

La cáscara no es completamente sólida, sino que está formada por una serie de poros (hasta 8.000 por huevo) que permiten el intercambio gaseoso y sobre todo la oxigenación de la sangre del embrión durante su período de desarrollo. Ingresa O_2 del exterior y se elimina CO_2 y H_2O .

La cáscara tiene una capa proteica que se solidifica en 12 a 24 horas, la cutícula, (glicoproteínas) que protegerá más o menos al huevo de la penetración a través de sus poros, de hongos o gérmenes nocivos para el embrión y permeable a gases. Una vez puesto el huevo, el barniz se seca rápidamente (la parte acuosa).

La cutícula o barniz, es la última capa del huevo, que se forma en el útero y está sobrepuesta al cascarón. Está compuesta por pigmentos protoporfirinas: biliverdina IX y quelato de cinc, materia orgánica y un gran porcentaje de agua, que actúa como lubricante en el momento de la postura.

➤ VAGINA

Es la parte que continúa en el oviducto, mide 12 cm. No tiene ninguna función en la formación del huevo que permanece en esta porción del aparato reproductor, aproximadamente 30 minutos.

➤ CLOACA

Aquí se retiene al huevo completo, antes de la oviposición (postura), generalmente se expulsa rápido pero puede también permanecer varias horas.

Generalmente, y si la gallina no es molestada, el huevo sale con el extremo más ancho primero, ya que la rotación la lleva a cabo en la cloaca.

La tabla 1 sintetiza las partes y funciones del oviducto durante la formación del huevo.

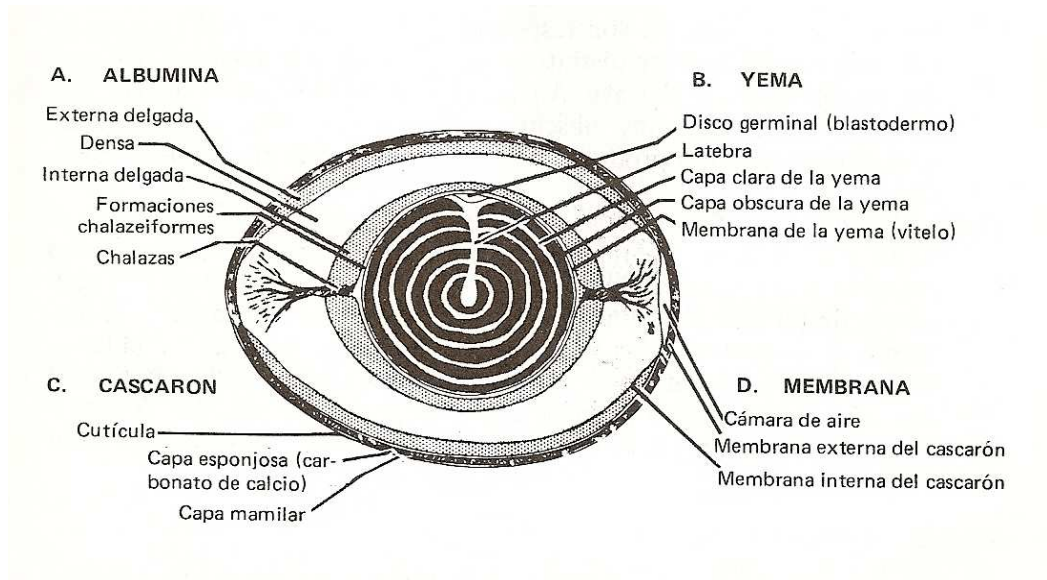
Tabla 1. Formación del huevo de gallina

OVIDUCTO	TIEMPO	LONGITUD	FUNCIÓN
INFUNDÍBULO	15 min	9 cm	Fecundación
MÁGNUM	3 h	33 cm	Albúmina
ISTMO	75 min	10 cm	Membranas Testáceas
ÚTERO O CÁMARA CALCÍFERA	20 h 45 min	10 –12 cm	Cáscara y cutícula
VAGINA	30 min	12 cm	-----
TOTAL	25,45 h	65 cm	-----

En la figura 2 se esquematiza la estructura del huevo de gallina detallado anteriormente.

Destacando que es un alimento altamente nutritivo, con pocas calorías (75 cal por unidad de 60 g aproximadamente), brindando una gran cantidad de vitaminas como B₁, B₂, B₆, B₁₂, E, D y A, folato; y minerales como hierro (altamente biodisponible) y zinc; además de proteínas del más alto valor biológico y sustancias muy importantes como luteína, zeaxantina y colina entre otras.

Figura 2. Estructura del huevo de gallina



5.2- CLASIFICACION QUÍMICA DE LOS LÍPIDOS

Esta descripción está basada en publicaciones realizadas por autores como: Castelló-Llobet *et al.* 1989; Blanco, 1997; Miles, 1999; Butcher y Miles, 2000; Esmail y Al-Kobra, 2000; Yépez, 2004.

Los nutrientes esenciales responsables de la alimentación además del agua, son las proteínas, las grasas, los hidratos de carbono (incluida la fibra), las vitaminas y los minerales.

Debido a que en este trabajo se pone énfasis en las variaciones del contenido graso en el huevo así como en la dieta humana, resulta conveniente describir que:

- a) El intestino de la gallina, está especialmente adaptado para realizar la absorción de las materias asimilables, ya que lleva en su interior numerosas vellosidades. Cada vellosidad intestinal tiene un capilar linfático y una intrincada red de capilares sanguíneos.

Los productos de la digestión de las grasas se absorben en su mayor parte a través de los capilares linfáticos, aunque en reducida cantidad también son absorbidos por los capilares sanguíneos. Durante este proceso de absorción e inmediatamente después de ella, la glicerina y los AG absorbidos vuelven a combinarse para formar grasa, que por el canal torácico son llevadas al torrente circulatorio.

La absorción de los principios nutritivos de los alimentos se realiza siempre por un proceso similar a la ósmosis -paso de un líquido a través de una membrana- para lo cual los alimentos ya digeridos tienen que hallarse en forma líquida.

Los productos del desdoblamiento de las proteínas y de los glúcidos, así como de las sales disueltas, son absorbidos por los capilares sanguíneos de las vellosidades intestinales y a través de éstos y por la vena porta son conducidos al hígado.

- b) Los lípidos son biomoléculas que comprenden un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas, ampliamente distribuidas en los tejidos

animales y vegetales, cuya característica común es ser insolubles o poco solubles en agua y solubles en solventes orgánicos como el éter o cloroformo. Esta propiedad se explica por la escasa polaridad de sus moléculas. La clase de lípidos más abundantes son las grasas o triglicéridos, que son la forma más importante de almacenar energía química en la mayor parte de los organismos.

Existen diversas clases de lípidos y cada uno posee funciones biológicas importantes y específicas:

- Son componentes esenciales de los seres vivos, en los que constituyen parte fundamental de todas las membranas celulares.

- En los animales forman el principal material de reserva energética (grasas neutras).

- Desde el punto de vista nutritivo, los lípidos de los alimentos, son importantes fuentes de Energía por su alto contenido calórico y, además, están relacionadas con este grupo de compuestos numerosas sustancias de importante actividad fisiológica a las que vehiculizan, como algunas vitaminas, hormonas, ácidos biliares, etc.

La fragmentación física o emulsión de las grasas se produce en el intestino, siendo favorecida por la acción de las lipasas intestinales y pancreáticas -esteapsina- que conducen a la hidrólisis total de las grasas, previa saponificación, para constituir glicerina y ácidos grasos.

Las grasas son absorbidas y transportadas al hígado o a los vasos quilíferos en forma de partículas coloidales. Las células hepáticas reservan las grasas en forma de vacuolas, formándose asimismo acúmulos adiposos en forma de grasas abdominales y viscerales no solo a expensa de la ingesta de lípidos, sino también por metabolización de los carbohidratos. Las reservas de

lípidos se movilizan previa fosforilación, proceso en el que intervienen los carbohidratos aportando energía.

Según la estructura química los principales lípidos se clasifican de la siguiente manera, también se conocen otros pero son menos abundantes en los tejidos animales:

- * Triacilglicéridos. (Triglicéridos)
- * Ceras.
- * Fosfoglicéridos:
 - Fosfatidiletanolamina.
 - Fosfatidiletanolcolina.
 - Fosfatidiletanolserina.
 - Fosfatidiletanolinositol.
 - Cardiolipina.
- * Esfingolípidos:
 - Esfingomielina.
 - Cerebrósidos.
 - Gangliósidos.
- * Esteroles y ésteres de sus ácidos grasos.

Seguidamente, se aborda una reseña de los lípidos considerados más importantes para este trabajo:

➤ TRIACILGLICÉRIDOS

Desempeñan en gran medida el papel de lípidos de reserva y no se encuentran normalmente en las membranas. Aparecen en forma de gotitas aceitosas microscópicas dispersas finamente y emulsificadas en el citoplasma; en los adipocitos o células grasas especializadas del tejido conjuntivo de los animales, se hallan almacenadas en grandes cantidades de gotitas de grasa que llenan casi por completo el volumen de la célula.

Las células grasas se encuentran en gran número debajo de la piel, en la cavidad abdominal, alrededor de los vasos sanguíneos profundos, y en las glándulas mamarias de los mamíferos. Mientras, que en las aves son de consistencia laxa y abundante, conteniendo al panículo adiposo (de color amarillo) presentándose distribuido debajo de la piel a la entrada del pecho, en la articulación de la espalda, las rodillas y bajo la piel del abdomen.

Todos los animales poseen grasas neutras como reserva. Esta reserva es más importante que la de los glúcidos, los cuales en caso de ayuno enseguida se agotan.

Los triacilglícidos constituyen una forma eficiente y concentrada de almacenar energía. Como la mayoría de los carbonos de las grasas están menos oxidados que los de los hidratos de carbono, la oxidación de aquellos en el organismo hasta dióxido de carbono y agua, rinde más desde el punto de vista de la producción de energía.

Debido a su hidrofobia, los lípidos no retienen agua asociada, a diferencia del glucógeno (material de reserva), que está muy hidratado. En consecuencia, las grasas pueden almacenar mucha mayor cantidad de energía en peso de materia. La composición química de las grasas varía según la localización, aún en el mismo animal. En general, la que cumple función de sostén, es sólida y en ella predominan los AGS de cadena larga, como por ejemplo la grasa perirrenal; mientras que las grasas de reserva que pueden ser usadas por el organismo en cualquier momento, son blandas casi líquidas a temperatura corporal, predominando los AGI (ácido oleico) en la mayoría de las especies animales y vegetales.

La composición de las grasas de reserva, en cierta medida está influenciada por la composición de las grasas de la dieta. Las grasas animales son muy pobres en AGPI, de ahí que se haya encontrado cierta correlación entre la incidencia de aterosclerosis y el consumo de grasas animales en la alimentación.

➤ **LIPOPROTEÍNAS**

Es la asociación de algunos lípidos con proteínas específicas. En el plasma sanguíneo existen tres clases “lipoproteínas del plasma”, que difieren entre sí, en su contenido de lípidos y proteínas, en su densidad, en su movilidad electroforética, etc. Contienen lípidos polares triacilglicéridos, así como colesterol y sus ésteres.

Las lipoproteínas del plasma se clasifican basándose en su densidad, que a su vez es el reflejo de su contenido lipídico. Cuanto mayor es el contenido lipídico, menor es la densidad y aumenta la tendencia a ascender, es decir a flotar, cuando se centrifuga el plasma sanguíneo a velocidades muy altas; de las cuales las más conocidas son:

VLDL (very low density lipoproteins) ó Lipoproteínas de muy baja densidad

LDL (low density lipoproteins) ó Lipoproteínas de baja densidad; y

HDL (high density lipoproteins) ó Lipoproteínas de alta densidad.

El plasma sanguíneo también contiene los quilomicrones, que son gotitas de triacilglicéridos casi puros, recubiertos por una capa muy delgada de proteína. Son mucho mayores que las lipoproteínas y transportan a los triacilglicéridos desde el intestino delgado en el que son absorbidos durante la digestión, hasta los depósitos de grasa.

Autores como Candlish y Crook (1992), expresan que en los tejidos, el quilomicron se libera paulatinamente de su carga de triglicéridos, los cuales son separados en sus constituyentes: glicerol y AG por un mecanismo de hidrólisis catalizado por la enzima Lipo-protein lipasa (LPL) y la forma en la cual el

tamaño del quilomicrón va disminuyendo hasta que al cabo de unas 14 horas no quedan de él sino unos remanentes de quilomicrón que son captados por el hígado cuyas células tienen receptores específicos para la porción proteica del remanente. De esta manera el colesterol de la alimentación es incorporado a las células hepáticas. Se dispone de evidencia que sugiere que la combinación de un nivel plasmático elevado de VLDL con un nivel bajo de HDL, constituyen un factor importante en el origen de la aterosclerosis, es decir en la formación de gruesos depósitos de colesterol y de sus ésteres sobre las paredes internas de los vasos sanguíneos. La aterosclerosis predispone a sufrir apoplejías y el infarto de coronarias, condiciones provocadas por la restricción del flujo sanguíneo a través de los vasos sanguíneos obstruidos en el cerebro y en el corazón, determinando que el tejido irrigado por el vaso muera por falta de oxígeno o de combustibles. En términos generales, los quilomicrones son los encargados de distribuir los lípidos desde el intestino hasta los tejidos, están relacionados con los lípidos exógenos que ingresan por vía digestiva; mientras que las restantes lipoproteínas (VLDL, LDL, HDL) están involucradas en el transporte de lípidos endógenos, sintetizados en el organismo.

Las grasas animales contienen dos compuestos que se cree predisponen a la aterosclerosis, son los AGS y el colesterol. La mayor parte de las grasas animales, por ejemplo de la carne, leche, y huevos, son relativamente ricas en AGS (con excepción de los pescados) y el contenido de los AGPI es más bien bajo; mientras que, las grasas vegetales (a excepción del cacao y el coco) son ricas en AGMI y AGPI.

Conociendo que las grasas saturadas e insaturadas poseen un valor calórico aproximadamente igual (9 Kcal por gramo), el consumo de una dieta rica en grasas animales saturadas pero pobre en grasas insaturadas, tiende a hacer “disminuir” la concentración de HDL y “aumentar” la concentración de LDL, y del colesterol total en la sangre de muchos individuos, aunque no en todos.

Según Steinberg *et al.* (1989) existe una correlación estadística positiva entre la incidencia de enfermedades del corazón y los bajos niveles de HDL, y también niveles elevados de LDL y colesterol total. Por ello, se cree y aconseja

que debiera sustituirse al menos en parte la ingesta de AGS de origen animal, por AGMI y AGPI de origen vegetal y del pescado.

Sin embargo, existe un fuerte factor genético en la incidencia de la enfermedad cardiovascular (Grundy y Vega 1988); que también está influenciada por el hábito de fumar, el sedentarismo y la hipertensión según lo mencionado por Mehta *et al.* (1998).

Por ello, no siempre todos los individuos experimentan un beneficio con dietas en las que se ha disminuido el contenido de grasa animal y de colesterol.

Indudablemente la dieta influye, pero no es suficiente ante el predominio genético; la aterosclerosis es una enfermedad con orígenes complejos y los individuos difieren notablemente en su susceptibilidad frente a ella.

➤ **ÁCIDOS GRASOS**

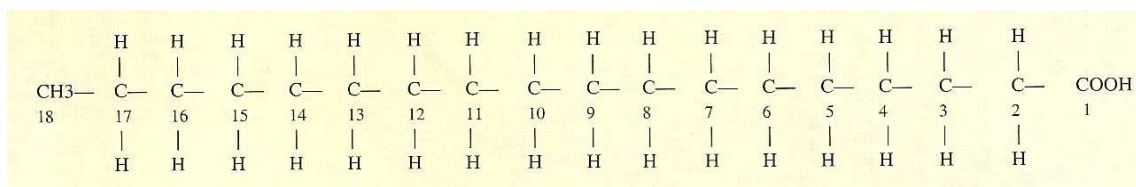
Los componentes básicos característicos de la mayor parte de los lípidos, son los ácidos grasos. Son ácidos orgánicos de cadena larga que poseen desde 4 hasta 26 átomos de carbono, tienen un solo grupo carboxilo y una cola prolongada no polar hidrocarbonada que confiere a la mayor parte de los lípidos su naturaleza de insolubles en agua, con un aspecto y consistencia grasosa u oleaginosa.

Un AG consiste en una cadena de carbonos con un grupo carboxilo (COOH) en un extremo y un grupo metilo (CH₃) en el otro. Los AG pueden tener cadenas cortas o largas.

La cadena de AG puede contener ligaduras dobles:

- cero dobles ligaduras: **saturados** por ejemplo, el ácido esteárico $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$, ver figura 3.

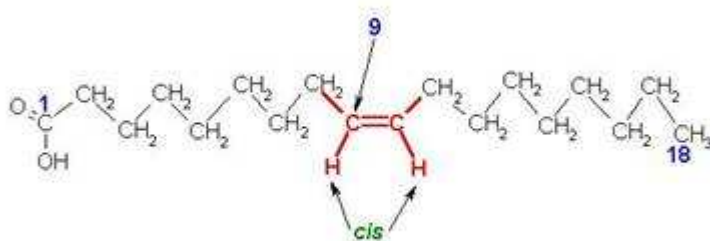
Figura 3. Estructura química del ácido esteárico



- una o más ligaduras dobles: **insaturados** Ej: ácido oleico (n-9)

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}=\text{O}$, ver figura 4.

Figura 4. Estructura química del ácido oleico



La nomenclatura sistemática usada más frecuentemente está basada en poner al AG el nombre del hidrocarburo con el mismo número de átomos de carbono, sustituyendo la **o** final por la terminación **-oico** (sistema ginebrino).

Así, los ácidos saturados terminan en **-anoico**, por ejemplo el ácido octanoico, y los ácidos insaturados con dobles ligaduras terminan en **-enoicos**, por ejemplo, el ácido octadecenoico (ácido oleico).

En los animales, las dobles ligaduras adicionales se introducen sólo entre la doble ligadura existente y el carbono del carboxilo, conduciendo a tres series de AG, conocidas como las familias n-9, n-6 y n-3, respectivamente.

En general, los insaturados son dos veces más abundantes que los saturados, tanto en los lípidos de vegetales como en los de los animales.

Cuando un AG contiene dos o más ligaduras dobles se dice que está poliinsaturado. Las dobles ligaduras normalmente están espaciadas en la forma más común de AG a intervalos de tres carbonos como en los ácidos linoleico (n-6, ver fig. 3), linolénico (n-3, ver fig.4) y araquidónico.

Figura 3. Estructura química del ácido linoleico (n-6)

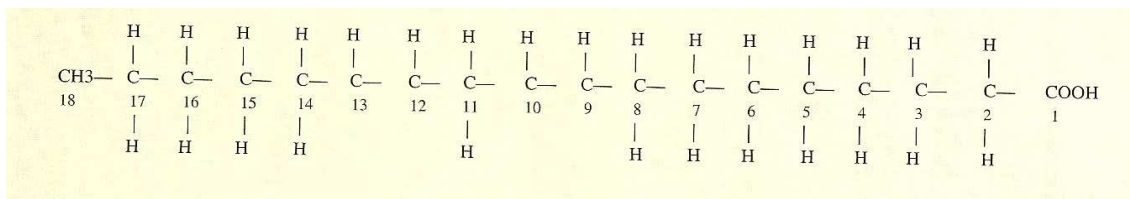
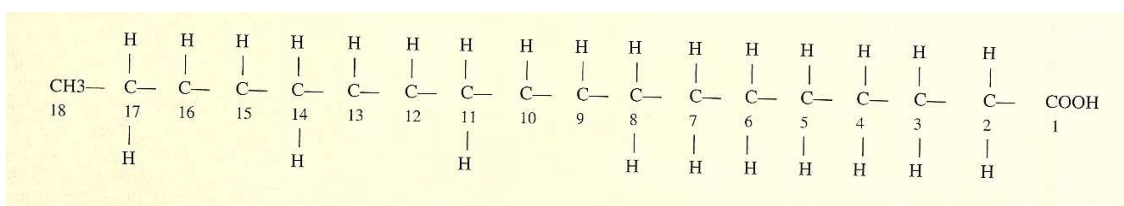


Figura 4. Estructura química del ácido linolénico (n-3)



Cuando se cuentan los carbonos de los AG, el carbono carboxilo (COOH) es siempre el número 1. Las letras del alfabeto griego también se usan para referirse a carbonos específicos en el AG. Al carbono junto al número carbono 1 (carboxilo) siempre se le llama alfa (α). Al carbono α le sigue beta (β) y el gamma (γ) y así sucesivamente. Al carbono terminal (CH₃) siempre se le designa como carbono omega (ω , última letra del alfabeto griego) sin importar que tan larga sea la cadena del AG.

Cuando un AG contiene una doble ligadura, a la ubicación se la designa contando los carbonos empezando por el número uno, el carbono carboxilo; por ejemplo el ácido oleico presenta una doble ligadura localizada entre el carbono 9 y el 10. El n-6 presenta dos dobles ligaduras localizadas entre los carbonos 9 y 10 y entre los carbonos 12 y 13. Por lo tanto, cada AG tiene su designación propia específica de fórmula estructural. También puede dar origen a una familia completa de AGPI n-6, como es el **ácido Araquidónico** (C 20:4 n-6).

Químicamente, los AGPI comúnmente se clasifican mediante un método sintetizado de nomenclatura, el cual designa la longitud de la cadena (número de carbonos), el número de dobles ligaduras y la posición de la doble ligadura

más cercana al metilo terminal (esto es diferente de la designación general de fórmulas estructurales para un AG específico).

El ácido linolénico, comúnmente conocido como AG n-3, puede originar una familia entera de componentes de AG n-3 poliinsaturados. Uno de estos AG n-3 es el ácido Eicosapentaenoico (**EPA**, C20:5 n-3) se cree que confiere a los esquimales cierta protección contra las enfermedades coronarias. También es precursor del ácido Docosahexaenoico (**DHA**, C 22:6 n-3).

Cabe aclarar, que el n-6 al igual que la familia de compuestos n-3, tienen funciones importantes en las células animales. Los AG n-3 y n-6 se consideran compuestos "progenitores" de una familia entera de otros AGE n-3 y n-6, esenciales para la función normal tisular. Estos "otros" compuestos son AG más largos que contienen más carbonos y más dobles ligaduras que sus "progenitores". A estos componentes se les conoce comúnmente como AGPI n-3 y n-6 de cadena larga o polyunsaturated fatty acids (PUFA).

En la bibliografía, los autores se refieren al ácido linoleico como C18:2, n-6 o C18:2, ω -6. Mientras que, al ácido linolénico a menudo se le nombra como C18:3, n-3 o C18:3, ω -3 y de ahí el término de AG n-3. La "n" se refiere a la posición de la primera doble ligadura a partir del grupo metilo terminal (carbono omega). Es decir, que **es indistinto mencionarlos con ω o n** y en cada caso, ambos se refieren al mismo AG.

En la nutrición animal se hace hincapié en dos AGE: el linoleico y el linolénico, ya que los animales únicamente pueden elongar (agregar carbonos) al carboxilo final de los AG progenitores n-3 y n-6 y no al omega; o sea, que no pueden sintetizar estos dos AG a partir de otros componentes de la dieta. Por lo tanto, las dietas deben contener estos AG que únicamente sintetizan las plantas, ya que éstas sí pueden agregar doble ligaduras a los finales metilos (omega) de los AG.

De hecho, existe una substancial diferencia entre vegetales superiores y animales, la nueva doble unión se introduce en la porción de la cadena carbonada que queda entre la ya existente y el grupo carboxilo. Por ejemplo a partir del ácido oleico (18:1 Δ 9) se obtiene el ácido 18:2 Δ 6,9 (octadecadienoico). Por esta razón, los ácidos linoleico y linolénico, no pueden

ser sintetizados por los animales y deben ser provistos por la dieta. De ahí que se los denomine AGE porque son indispensables. Su falta en la alimentación produce efectos carenciales que desaparecen si se los agrega a la dieta.

El ácido araquidónico es parcialmente indispensable, ya que el organismo puede sintetizarlo si dispone de ácido linoleico, por elongación y dos desaturaciones adicionales, como se verá más adelante en el metabolismo de los lípidos en las gallinas (5.3).

Mayes (1997) destaca que el metabolismo de lípidos se centra en gran parte en los AG y el colesterol; el origen de los AG de cadena larga es la síntesis de novo de la acetil-CoA a partir de carbohidratos o los lípidos de los alimentos. En los tejidos, los AG pueden ser oxidados de acetil-CoA (β -oxidación) o esterificados a acilgliceroles, donde, como triacilgliceroles (grasas), constituyen la principal reserva calórica del cuerpo. La acetil-CoA formada por la β -oxidación tiene varios destinos importantes:

1. Como en el caso de la acetil-CoA derivada de los carbohidratos, es oxidada completamente a $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ en el ciclo del ácido cítrico. Los AG producen una cantidad considerable de energía en la β -oxidación y en el ciclo del ácido cítrico y por tanto, son combustibles tisulares muy eficaces.

2. Es una fuente de átomos de carbono para el colesterol y otros esteroides.

3. En el hígado forma acetoacetato, precursor de los cuerpos cetónicos, que son combustibles tisulares hidrosolubles alternos, los cuales se convierten en importante fuente de energía bajo ciertas condiciones (por ejemplo, inanición).

Seguidamente en las tablas 2 y 3, a modo ilustrativo se presenta, una clasificación de los AGS y AGI de mayor importancia fisiológica, con sus respectivos números de carbonos y su presencia en la naturaleza.

Tabla 2. Ácidos grasos saturados

NOMBRE COMÚN	Nº DE ÁTOMOS DE CARBONO	PRESENCIA
Fórmico*	1	Interviene en el metabolismo de las unidades "C ₁ " (formato)
Acético	2	Principal producto final de la fermentación de carbohidratos por microorganismos del rúmen. **
Propiónico	3	Un producto final de la fermentación de carbohidratos por microorganismos del rúmen. **
Butírico	4	Existen en pequeñas cantidades en ciertas grasas: especialmente en la mantequilla. Un producto final de la fermentación de carbohidratos por microorganismos del rúmen. **
Valérico	5	
Caproico	6	
Caprílico (octanoico)	8	Existen en pequeñas cantidades en muchas grasas (incluyendo la mantequilla), especialmente de origen vegetal.
Cáprico (decanoico)	10	
Láurico	12	Espermaceli, canela, almendra de palma, aceite de coco y laurel
Mirístico	14	Nuez moscada, almendra de palma, aceites de coco, mirto (arrayán).
Palmítico	16	Comunes en todas las grasas animales y vegetales
Esteárico	18	

Fuente: Blanco (1997).

Tabla 3. Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica

Nº átomos de C y posición de Ligaduras	Serie	Nombre común	Nombre Sistemático	Presencia
Ácidos monoenoicos (una doble ligadura)				
16:1;9	$\omega 7$	Palmitoleico	<i>cis</i> -9- Hexadecenoico	En casi todas las grasas.
18:1;9	$\omega 9$	Oleico	Cis-9-Octadecenoico	Posiblemente el ácido graso más común en las grasas naturales.
18:1;9	$\omega 9$	Elaídico	<i>trans</i> -9-Octadecenoico	Grasas hidrogenadas y de los rumiantes.
22:1;13	$\omega 9$	Erúcico	Cis-13- Dococenoico	Aceites de colza o nabo y de mostaza.
24:1;15	$\omega 9$	Nervónico	Cis-15- Tetracosenoico	En los cerebrósidos.
Ácidos dienoicos (dos dobles ligaduras)				
18:2;9,12	$\omega 6$	Linoleico	Todos <i>cis</i> -9,12-Octadecadienoico	Maíz, cacahuete, semillas de algodón, poroto de soja y numerosos aceites vegetales (ej: maíz).
Ácidos trienoicos (tres dobles ligaduras)				
18:3;6,9,12	$\omega 6$	γ -Linolénico	Todos <i>cis</i> -6,9,12-Octadecatrienoico	Algunas plantas; ej: aceite de la hierba del asno; es un ácido graso menor en los animales.
18:3;9,12,15	$\omega 3$	α -Linolénico	Todos <i>cis</i> -9,12,15-Octadecatrienoico	Con frecuencia se encuentra junto con el ácido linoleico pero en particular en el aceite de linaza.
* Estrictamente no es un derivado alquilo. ** También en el colon de monogástricos.				

Tabla 3 (continuación) Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica

Ácidos tetraenoicos (cuatro dobles ligaduras)

20:4;5,8,11,14	$\omega 6$	Araquidónico	Todos <i>cis</i> -5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Se encuentra junto con el ácido linoleico, en particular en el aceite de cacahuete; componente importante de los fosfolípidos en los animales.
----------------	------------	--------------	---	--

Ácidos pentaenoicos (cinco dobles ligaduras)

20:5;5,8,11,14,17	$\omega 3$	Timnodónico	Todos <i>cis</i> -5,8,11,14,17-Eicosapentenoico	Componente importante de los aceites de pescado; por ejemplo, aceite de hígado de bacalao.
22:5;7,10,13,16,19	$\omega 3$	Clupanodónico	Todos <i>cis</i> -7,10,13,16,19-Docosapentenoico	Aceites de pescado, fosfolípidos del cerebro.

Ácidos hexaenoicos (seis dobles ligaduras)

22:6;4,7,10,13,16,19	$\omega 3$	Cervónico	Todos <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-Docosahexanoico	Aceites de pescado, fosfolípidos del cerebro.
----------------------	------------	-----------	---	---

Fuente: Blanco (1997).

Bèzard (1994), describe acerca del metabolismo y la disponibilidad de AGE en tejidos animales y humanos, los cuales no son sintetizados en los tejidos, y pertenecen a las familias de AGPI n-6 y n-3, derivados del n-6 y ALA. Los requerimientos óptimos son 3-6% de energía ingerida para n-6, y 0,5-1 % para ALA en adultos. Los requerimientos de ALA son más altos en el desarrollo. Las fuentes dietarias de n-6 y ALA son principalmente las plantas, mientras que el ácido araquidónico se encuentra en los productos de origen animal terrestre; y el EPA y DHA se encuentran en productos de origen animal marino.

Los EPA están principalmente presentes en triacilgliceroles dietarios, los cuales deberían ser hidrolizados por las lipasas en el lumen gástrico e intestinal. Los DHA parecen liberarse en forma más lenta que los otros, su absorción intestinal se retrasa, pero no disminuye.

Los AGPI de cadena larga se incorporan en cantidades importantes de quilomicrones en los fosfolípidos; sin embargo, su absorción por los tejidos no es más rápida que la absorción de los AGPI de cadena corta.

En los tejidos, los n-6 y ALA, los cuales constituyen la mayor parte de los EPA dietarios, deberían convertirse en AG de una cadena más larga e insaturada por reacciones de elongación y desaturación alternativas donde intervienen las enzimas $\Delta 6$, $\Delta 5$ y $\Delta 4$. Los tejidos animales son más activos en su biosíntesis que los tejidos humanos. El hígado es uno de los órganos más activos y su rol es crítico al proveer a tejidos menos activos, particularmente el cerebro, con AGPI de cadena larga transportados por VLDL. En el hígado muchos factores nutricionales, hormonales y fisiológicos actúan en la biosíntesis de AGPI.

Los AG dietarios ejercen una gran influencia y son a menudo inhibidores. El ALA dietario inhibe la desaturación $\Delta 6$ del n-6. Los productos de desaturación de los ácidos araquidónico, EPA y DHA inhiben la desaturación $\Delta 6$ del n-6 y la desaturación $\Delta 5$ del DGLA (ácido dihomo- γ -linolénico).

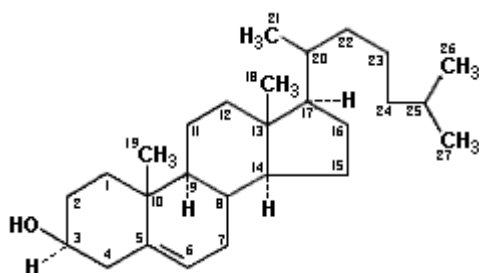
Con respecto a las hormonas, la insulina y la tiroxina son necesarias para las actividades de desaturación $\Delta 6$ y $\Delta 5$, mientras que otras hormonas (glucagón, epinefrina, ACTH, glucocorticoides) inhiben la desaturación. En lo

que respecta a los factores fisiológicos, la edad de los individuos es crítica. En el feto, el hígado y el cerebro son capaces de convertir los n-6 y ALA en EPA de cadena larga, pero éstos, son también secretados por la madre luego de la síntesis en el hígado materno y la placenta. En los animales inmediatamente después del nacimiento, la actividad de desaturación $\Delta 6$ aumenta en el hígado y disminuye en el cerebro.

➤ COLESTEROL

El colesterol es quizá el esteroide mejor conocido debido a su relación con la aterosclerosis. No obstante, en el metabolismo también tiene importancia debido a que es precursor de un gran número de esteroides igualmente relevantes que incluyen ácidos biliares, hormonas suprarrenales, hormonas sexuales, vitamina D, glucósidos cardíacos, fitosteroles del reino vegetal y algunos alcaloides. Es un estero, el más abundante en los tejidos animales (fig 7). Se presenta como un sólido de color blanco, cristalino, insoluble en agua, muy soluble en éter y cloroformo. En el plasma se lo encuentra en estado libre y esterificado.

Figura 7. Estructura química del colesterol



Es particularmente abundante en la bilis, de la cual puede llegar a precipitar en forma de cristales que da lugar a la formación de cálculos (litiasis biliar), los que se alojarán en la vesícula biliar o en las vías biliares.

Está ampliamente distribuido en diversos órganos y tejidos de los organismos animales, y proviene de dos fuentes:

a) Exógena: de los alimentos que ingerimos, y aportan gran cantidad de colesterol son: el hígado, los riñones, los camarones y la carne. La yema de huevo ocupa un lugar intermedio, y en los extremos están los sesos que contienen ocho veces más colesterol que los huevos y la leche (Yépez, 2004). El colesterol de los alimentos es colesterol esterificado con AG. Una vez

ingerido, el éster de colesterol llega hasta el intestino delgado donde una enzima del páncreas: colesterol esterasa, separa por hidrólisis al colesterol del AG; el colesterol libre difunde a través de la membrana de las células de la mucosa intestinal y una vez dentro de éstas es reesterificado. En estas condiciones pasa a formar parte de los quilomicrones, unas partículas muy densas formadas de proteína, colesterol, ésteres y otros lípidos como los triglicéridos. Los quilomicrones por vía linfática llegan a la circulación general y por ésta a los distintos órganos y tejidos del cuerpo.

b) Endógena: de la síntesis que tiene lugar en algunos órganos y tejidos de nuestro cuerpo. El colesterol no solamente proviene de los alimentos; también es sintetizado en el hígado, suprarrenales, piel, mucosa intestinal, ovarios, testículos y aorta. La síntesis endógena tiene lugar principalmente en el hígado donde ocurre a una velocidad de 5×10 moléculas de colesterol por segundo (Morgan, 1993).

Yépez (2004), expresa que la fuente del colesterol endógeno es el ácido acético proveniente de la Acetil Coenzima A (Acetil CoA) que es el producto de la oxidación de las grasas, carbohidratos y de algunas proteínas. Por lo tanto, virtualmente todos los macronutrientes son precursores potenciales de la síntesis del colesterol. Entonces, sin temor a equivocaciones hay que admitir que un aumento de carbohidratos en la alimentación incrementa la síntesis de colesterol a partir de Acetil CoA.

Tanto el colesterol que llegó al hígado proveniente de los alimentos como el que se sintetizó en los hepatocitos pasa a la sangre para ser conducido hacia los órganos y sistemas del organismo donde se lo requiere. Pero como es un compuesto que no tiene afinidad por las soluciones acuosas, para ser transportado por la corriente sanguínea, se asocia a proteínas que le sirven de vehículo formando los compuestos llamados lipoproteínas, ya mencionadas en triglicéridos. Las proteínas transportadoras no acarrean solamente colesterol sino también otros lípidos.

Yépez (2004), también describe que las VLDL, conteniendo triglicéridos y colesterol salen del hígado hacia la circulación general; descargan los AG en

el endotelio de los lechos capilares de los músculos y del tejido adiposo (proceso en el que participa la enzima LPL) y se transforman paulatinamente en otra lipoproteína, la LDL, que para entonces tiene una carga proporcionalmente muy alta de colesterol. La fracción proteica de LDL se identifica como B-100. El colesterol de las LDL es captado por las células por un mecanismo de endocitosis mediado por un receptor específico para B-100.

Hay un mecanismo alternativo para la captación que está a cargo de macrófagos. Cuando estos macrófagos están presentes en la íntima de las arterias forman “células espumosas” que contribuyen a la lesión aterosclerótica.

Si la cantidad de colesterol provisto por las LDL es excesivo se producen al menos dos fenómenos:

- a) la enzima ACAT (acil-CoA-colesterol acil transferasa) lo esterifica y forma oleatos y palmitatos de colesterol; y,

- b) La síntesis de los receptores para LDL en las membranas es reprimida con lo cual el colesterol no puede ser captado por las células y en consecuencia se incrementa la concentración de LDL en la sangre. Este incremento del colesterol de las LDL es el que se considera como “el factor de riesgo” para la formación de ateromas. Por esta razón se le llamó el colesterol “malo”.

Como bien lo han destacado Mehta *et al.* (1998), ciertamente que es uno de los factores, pero no es el único. Hay otros involucrados, por ejemplo, las infecciones y la inflamación son factores que al lesionar previamente la íntima de las arterias facilitan la localización y crecimiento del ateroma.

En todo caso, la teoría del colesterol malo fue desmitificada, cuando en estudios realizados por Grundy y Vega (1988), se observó que no todos tenemos las partículas LDL del mismo tamaño. Que hay personas que las tienen grandes y otras pequeñas. Quienes tienen LDL grandes (de tipo A) no exhiben sensibilidad especial a desarrollar ateromas y que las personas que las tienen pequeñas (de tipo B) son especialmente sensibles. También señala que hay personas inusualmente sensibles al consumo de AGS que responden con elevaciones notables de LDL, mientras que otras son resistentes y solo experimentan pequeñas elevaciones.

Según lo describieron Steinberg *et al.* (1989), las LDL pequeñas pueden atravesar más fácilmente los poros de las células para llegar a la subíntima de las arterias donde ocurre la oxidación de la LDL-colesterol por los radicales libres, cuestión involucrada en el desarrollo de la placa ateromatosa. El hecho de que se reconozca que existen unas personas poco sensibles y otras hipersensibles, ubica la cuestión en el campo de la Genética. Contrariamente, el colesterol acarreado por las HDL ha sido denotado como el colesterol “bueno”. Sucede que las HDL salen del hígado hacia la circulación sanguínea y al pasar por las superficies celulares remueven el colesterol. Se trata de una reacción que esterifica al colesterol con la intervención de la enzima lecitin-acil colesterol transferasa (LCAT). Las HDL, originalmente discoides se vuelven como globos y así llegan al hígado donde hay un receptor específico para la fracción proteica de HDL. El colesterol esterificado es captado por el hígado y convertido en ácidos y sales biliares que se excretan con la bilis. Por esta función que es inherente a la fisiología humana, se le confirió –extrañamente- al colesterol de las HDL, la característica de “bueno”.

De acuerdo a lo manifestado en trabajos publicados por Grundy y Vega (1988); Steinberg *et al.* (1989); Mehta *et al.* (1998); Di Marino (2001); Yépez (2004), se podría decir que:

- ✓ La mayor parte del colesterol de la sangre (un 70% aproximadamente) es provisto por la síntesis endógena.
- ✓ Cuando la dieta es muy rica en colesterol, la síntesis se inhibe parcialmente, pero aún en tales condiciones el hígado sigue produciendo un 50% del total.
- ✓ Cuando la alimentación está virtualmente libre de colesterol, la biosíntesis ocurre a la máxima velocidad, pero no compensa lo que se obtiene de la dieta.

- ✓ El ayuno reduce marcadamente la actividad de la enzima hidroximetilglutaril (HMG) CoA reductasa, con lo cual disminuye la síntesis de colesterol. Luego de la realimentación que sigue al ayuno, la actividad de la HMG CoA reductasa aumenta considerablemente.

- ✓ Todo exceso es malo. El consumo excesivo de azúcares simples es malo. La ingestión abundante de grasas saturadas es mala. El colesterol es malo si se consume en grandes cantidades, pero 200 a 300 mg diarios es aceptable y un huevo de 60 g tiene aproximadamente entre 150 a 200 mg.

5.3. METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS EN LAS GALLINAS

5.3.1. COMPONENTES Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL HUEVO

A lo descrito hasta ahora se le suman otras consideraciones, a fin de esclarecer el comportamiento de los lípidos en las gallinas ponedoras, y por ende en el huevo.

Los componentes del huevo son: la cáscara y membranas, la albúmina y la yema, las proporciones relativas de cada uno de los componentes varían en función de numerosos factores; existiendo una importante variabilidad entre ellos.

Ha habido un notable incremento en los últimos años de la proporción de albúmina en detrimento de la yema, como consecuencia de la mejora genética. Así por ejemplo, el porcentaje medio de albúmina y yema en la revisión de Shenstone (1968) fue del 58,5% y 31,0% respectivamente, mientras que 20 años más tarde eran del 61,5% y 29,0% Sauveur, (1988).

Esta tendencia ha sido apoyada luego por Sauveur *et al.*, (1993) al comparar datos de la composición del huevo de una estirpe comercial actual y de dos estirpes ancestrales; el incremento en el tamaño del huevo logrado en los últimos años ha sido fundamentalmente a un incremento en la cantidad de albúmina.

Cáscara

Aproximadamente el 92% está constituida por sales inorgánicas (Tabla Nº 4) y es determinante para establecer la calidad externa del huevo. Muchos son los factores que pueden hacer variar su calidad, como la edad, genética, nutrición, manejo, estrés, sanidad, entre otros (North, 1993).

Albúmina

Se compone mayormente de agua y proteínas (Tabla Nº5), representando una ventaja para un producto comestible de origen animal, que además le confiere propiedades específicas funcionales y nutricionales. Más de

90% de su materia seca está constituida por proteínas; entre las mismas, las que se destacan por su importancia cuantitativa son ovoalbúmina; conalbúmina u ovotransferrina; ovomucoide; ovomucina y lizosima; principalmente constituidas por fosfoglucopeínas, glucoproteínas y aminoácidos azufrados, lo cual le confiere a la albúmina, poder espesante, antioxidante y antimicrobiano (Grobas y Mateos, 1996).

Yema

La casi totalidad de los lípidos del huevo se encuentra en la yema en forma de lipoproteínas (asociados con vitelina y vitelenina). La yema contiene un 63% de lípidos sobre sustancia seca, de los cuales casi un 30% son fosfolípidos (Tabla Nº 6). Estos lípidos de la yema son fuentes fácilmente solubles en agua y con gran capacidad para emulsionar otras sustancias.

Las cifras presentadas en las Tablas Nº 4, 5 y 6, no pretenden ser una referencia absoluta, pero son representativas de la composición química de un huevo tipo.

Grobas y Mateos (1996), explican que la proporción de AGPI de 20 y 22 carbonos es superior en los fosfolípidos que en los triglicéridos. Asimismo, el porcentaje relativo de AGS esteárico es mayor mientras que el AGMI oleico es menor; y también, que más del 98% de los hidratos de carbono del huevo están en forma de glucosa libre y, aunque no suponen más del 0,4% del huevo, juegan un papel importante como primera fuente de energía para el embrión.

Otros nutrientes cuantitativamente poco importantes, pero esenciales desde el punto de vista nutricional, son los minerales y las vitaminas. Excepto sodio, potasio y cloro que están presentes en forma libre, los demás minerales están ligados a proteínas o fosfolípidos. El fósforo es orgánico casi en su totalidad y forma parte de las fosfoproteínas y fosfolípidos de la yema.

La mayoría de las vitaminas se concentran en la yema más que en la albúmina, especialmente el caso de las vitaminas liposolubles (A, D3, E y K). La composición mineral presenta menor variación que la vitamínica. Una de las razones de esta menor variabilidad, es la mayor precisión analítica en la determinación de los minerales que de las vitaminas (Cotterill *et al.* 1977).

El color amarillo-anaranjado de la yema es debido la presencia de pigmentos carotenoides, principalmente las xantófilas: luteína y zeaxantina. Aunque no son importantes desde el punto de vista nutricional, sí lo son comercialmente, por ser uno de los parámetros de calidad que tiene en cuenta el consumidor. El color amarillento de la clara se debe a la presencia de riboflavina, en caso de carencia, la albúmina presentará un color más blanquecino.

En las Tablas N° 4, 5 y 6, se encuentran descriptas las composiciones químicas de cada una de las estructuras del huevo en cuestión.

Tabla 4. Composición química del huevo: cáscara

CÁSCARA 9,5 %	
incluye membranas de la cáscara	
<hr/>	
	Carbonato de calcio: 98,4
SALES INORGÁNICAS 91,87	Carbonato de magnesio: 0,8
	Fosfato tricálcico: 0,8
PROTEÍNAS:	6,4
AGUA:	1,7
LÍPIDOS:	0,03
TOTAL:	100
<hr/>	
Fuente: Mine y Kovacs-Nolan (2004).	
<hr/>	

Tabla 5. Composición química del huevo: albúmina

ALBÚMINA 63 %			
		Ovoalbúmina	54,0
		Ovotransferrina	12,0
		Ovomucoide	11,0
PROTEÍNAS:	9,7 - 10,6	Ovomucina	3,5
		Lysozima	3,4
		Globulina G2	4,0
		Avidin	0,05
LÍPIDOS:	0,03		
CARBOHIDRATOS:	0,4 - 0,9		
CENIZAS:	0,5 - 0,6		
TOTAL:	100		
Fuente: Mine y Kovacs-Nolan (2004).			

Tabla 6. Composición química del huevo: yema

YEMA 27,0 A 27,5 %		
PROTEÍNAS:	15,7 - 16,6	Apovitelina: I-IV: 37,3
		Lipovitelina apoproteínas: 40,0
		α-lipovitelina
		β-lipovitelina
		Livetina: 9,3
		α-livetina (albúmina sérica)
		β-lipovitelina (α2 glicoproteína)
		γ-livetin (γ globulin)
		Fosvitin: 13,4
		Biotin-partículas proteicas (trazas)
LÍPIDOS:	32,0 - 35,0	Triglicerol: 66
		Fosfatidilcolina (PC) 24
		Fosfatidiletalona (PE) 2,8
		Lysofosfatidilcolina (LPC) 0,6
		Esfingomielina 0,6
		Colesterol 5,0
		Otros 1,0
CARBOHIDRATOS:	0,2 - 1	
CENIZAS:	1,1	
TOTAL:	100	
Fuente: Mine y Kovacs-Nolan (2004).		

5.3.2. VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DEL HUEVO

La composición del huevo varía con la edad de la gallina, la estirpe y el tipo de manejo. El factor más importante, sin embargo, es la alimentación. Dada la diferente composición química de las fracciones del huevo, cualquier factor que afecte a la relación yema/albúmina incidirá sobre la composición del mismo. Así, el incremento en el porcentaje de albúmina, consecuencia del mejoramiento genético, ha producido huevos con un menor contenido en materia seca, lípidos, calorías y colesterol, en relación con los huevos de hace unos años (Sauveur, 1988).

Grobas y Mateos (1996), mencionan que los huevos de gallina Araucana tienen un 23% más de yema, 9% menos de albúmina, 9% menos de cáscara y 10% más de materia seca que los huevos de gallinas Leghorn.

Algo similar ocurre con el peso de huevo y la edad del ave. Los huevos de mayor tamaño tienen menor porcentaje de yema para una edad dada (Fletcher *et al.*, 1983). En huevos de igual tamaño puestos por gallinas de edad diferente, el porcentaje de yema aumenta con la edad del ave (Fletcher *et al.*, 1981; Grobas y Mateos, 1996).

Diversos autores han encontrado diferencias significativas en la composición química del huevo de varias estirpes. El porcentaje de proteína, porcentaje de grasa, perfil de AG, nivel de colesterol, contenido en minerales y contenido en vitaminas difiere entre estirpes, sin embargo, estas diferencias son poco importantes (Washburn, 1982).

Naber (1979) clasificó a los nutrientes del huevo en base a su respuesta de cambios en la dieta, desde esa fecha varios estudios han complementado y modificado esta clasificación pero sus principales conclusiones siguen siendo válidas. La mayoría de los nutrientes (proteínas, aminoácidos, grasa total y macrominerales) muestran escasa variación al cambiar la dieta. Los microminerales, vitaminas y AG son los más influenciados por los cambios dietéticos; el efecto será más o menos pronunciado en función del nutriente en cuestión.

La composición de la clara o albúmina es bastante estable y muy difícil de modificar nutricionalmente, ya que sus componentes son segregados por las células epiteliales del oviducto. Un cambio en la ración no modifica de forma sustancial su composición, pero puede modificar la relación yema/albúmina (Mateos, 1991).

Así, al adicionar grasa al alimento aumenta más el peso de la clara que el de la yema, con lo que disminuye ligeramente la relación yema/albúmina y con ello la concentración nutritiva del huevo (Whitehead, 1995; Grobas y Mateos, 1996).

Stadelman y Pratt (1989) revisando los factores que modifican la composición del huevo, indican que el nivel de proteína en el huevo aumenta ligeramente al incrementar la proteína y la energía de la dieta. La fuente de proteína de la dieta no tuvo efecto alguno sobre el nivel proteico del huevo. La cantidad total de albúmina depende del equilibrio en aminoácidos de la dieta.

Sauveur (1988) agrega que una deficiencia en lisina o metionina reduce el peso de la clara y disminuye la concentración de todos los aminoácidos libres.

El contenido en microminerales del huevo puede modificarse mediante la dieta, pero el patrón de respuesta es diferente para cada uno de ellos. Aparte de estos microminerales, es posible encontrar metales pesados en el huevo por incluir inadvertidamente en la dieta semillas tratadas con insecticidas y pesticidas. En general, parece ser que los metales tóxicos tienen tendencia a depositarse en la albúmina, encontrándose niveles superiores en los huevos producidos en áreas industrializadas que en las rurales (Stadelman y Pratt, 1989).

El factor más importante que influye sobre la composición vitamínica del huevo es el contenido en vitaminas de la dieta, pero el efecto es muy variable según la vitamina. Así, el nivel de riboflavina y de vitamina B12 aumenta casi proporcionalmente al aumentar su nivel en la dieta. Sin embargo, la riboflavina alcanza un techo máximo con un nivel dietético en torno a 2 a 4 veces las recomendaciones del NRC (1984); mientras que la vitamina B12 continúa

aumentando por encima de esas dosis (Squires y Naber, 1992; Squires y Naber, 1993; Naber, 1993).

La eficiencia de transferencia de las vitaminas de la dieta al huevo varía también para cada vitamina; así Naber (1993), calcula estas eficiencias a partir de varios trabajos publicados por diversos autores utilizando niveles de 1 a 2 veces las recomendaciones del NRC (1984). Este autor concluye que la vitamina A tiene una alta eficiencia (60-80%), mientras que es baja en otras vitaminas como la K, la tiamina o la folacina (< 10%); en tanto que la riboflavina, el ácido pantoténico, la biotina y las vitaminas B12, D3 y E presentan eficiencias del 20 al 50%.

La vitamina E se tratará con especial atención, por su presencia en el huevo y por su papel antioxidante, en relación con los ácidos grasos n-3.

Recientes trabajos indican que su ingestión en dosis elevadas puede proteger contra las enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Por esto, resulta frecuente encontrar en mercados internacionales huevos enriquecidos en ácidos grasos n-3 y vitamina E. El contenido en vitamina E (dl- α -tocoferol) del huevo se incrementa de forma logarítmica con el nivel de vitamina E (dl- α -tocoferil acetato) en la dieta (Naber, 1993).

El tipo y el nivel de grasa así como otras vitaminas liposolubles influyen en la eficacia de transferencia de la vitamina E de la dieta al huevo. Así, la adición de grasa al alimento mejora la deposición de vitamina E en el huevo; esta mejora es menor cuanto más insaturada es dicha grasa. Por el contrario, la suplementación extra con vitamina A en la dieta, disminuye la transferencia de vitamina E a la yema (Jiang, *et al.* 1994; Grobas y Mateos, 1996).

La vitamina E está involucrada en los mecanismos de oxidación ejerciendo un papel antioxidante. Al adicionar dl- α -tocoferol a la dieta disminuye la oxidación, medida por el índice del ácido tiobarbitúrico (TBA), en los huevos cuyas gallinas habían consumido aceite de lino o aceite de pescado; por otra parte, la persistencia de los valores TBA con el tiempo de almacenamiento parece indicar que los productos de la oxidación lipídica, una vez depositados en el huevo, permanecen estables (Marshall *et al.* 1994; Cherian *et al.* 1996b).

Por otro lado, también se ha demostrado que las vitaminas antioxidantes anulan los efectos protectores de las drogas cardiovasculares; encontrándose en estudios recientes que la combinación de vitaminas antioxidantes como la vitamina C y beta caroteno, bloquean el aumento de los niveles de colesterol HDL, vistos con la droga simvastatina (un compuesto de protección vascular); también se demostró que la vitamina E, promueve el proceso de oxidación cuando sobrepasa el nivel superior (Brown *et al.* 2001).

De lo expuesto hasta ahora, se podría inferir que de los constituyentes del huevo, el componente lipídico es el más fácil de modificar mediante la manipulación de la dieta; debido a la importancia atribuida a la grasa y a sus fracciones en relación con la salud humana, en los siguientes párrafos se tratará de mostrar el interés y las posibilidades de modificar este nutriente en el huevo.

5.3.3. SÍNTESIS E INCORPORACIÓN DE LA GRASA EN LA YEMA DEL HUEVO

Una gallina en máxima producción excreta diariamente unos 6 g de grasa a través de la yema. El esfuerzo metabólico requerido para mantener el suministro de grasa para la formación de la yema se consigue mediante un organizado sistema de transporte y síntesis (Noble y Cocchi, 1990).

Las aves pueden sintetizar AG de hasta 18 átomos de carbono e introducir dobles enlaces en las posiciones 7 o 9 de la cadena carbonada (contando a partir del grupo metilo), mediante la acción de una enzima denominada $\Delta 9$ desaturasa, dando lugar a las familias del ácido palmitoleico (n-7) y del ácido oleico (n-9). Sin embargo, los animales no poseen enzimas capaces de insertar dobles enlaces entre el carbono 9 y el grupo metilo terminal, por lo que los AG con dobles enlaces en ese reglón son necesarios en la dieta, y se denominan AGE (Enser, 1984).

El AGE más característico es el n-6, precursor de la familia n-6 de AGPI. Actualmente también se considera esencial el ALA prototipo de la familia n-3 de AGPI.

Los AGPI, son componentes estructurales de las membranas celulares (fosfolípidos, ésteres de colesterol) y sirven de precursores de las prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos. Durante el metabolismo normal se producen interconversiones entre AG mediante desaturaciones y elongaciones. Estas reacciones tienen lugar siempre en el grupo carboxilo permaneciendo el otro extremo de la molécula inalterado, por lo que los AGPI de las familias n-6 y n-3 son independientes y no intercambiables (Whitehead, 1984).

Mayes, (1997) destaca que prostaglandinas y tromboxanos, son hormonas locales sintetizadas con rapidez en el momento en que se necesitan, y que actúan cerca de sus sitios de síntesis. Los agentes antiinflamatorios no esteroideos, como la aspirina, actúan inhibiendo la síntesis de prostaglandinas. Las actividades fisiológicas principales que desarrollan la prostaglandinas son como reguladores de la acción de la adenilatociclasa, por ejemplo, 1- en el

control de la agregación plaquetaria; y 2- en la inhibición del efecto de la hormona antidiurética en el riñón. Los leucotrienos causan contracción muscular y tienen propiedades quimiotácticas, que sugieren una intervención importante en las reacciones alérgicas y la inflamación. Las sustancias de reacción lenta de la anafilaxis, se han identificado como una mezcla de leucotrienos. Variando las proporciones de los diferentes AGPI en la dieta, es posible influir en el tipo de eicosanoides sintetizados, lo que indica que sería posible modificar el curso de la enfermedad por medio de la alimentación.

Ambas familias de n-6 y n-3 son modificadas por los mismos complejos enzimáticos, por lo que los productos finales dependen de la afinidad de las $\Delta 4$, $\Delta 5$ y $\Delta 6$ desaturasas, por sus sustratos y la competición o inhibición entre los sustratos de las diferentes familias (Enser, 1984).

Según Watkins (1991), la enzima $\Delta 6$ desaturasa, limitante en la conversión de n-6 y ALA a AGPI, tiene el siguiente rango de preferencia de sustratos: linolénico>linoleico>oleico.

El n-6, n-3 y araquidónico son AGE para la alimentación completa de muchos animales, incluyendo el hombre; por lo que deben incluirse en la dieta (Bèzard, 1994).

En los animales, es posible introducir dobles ligaduras en las posiciones $\Delta 4$, $\Delta 5$, $\Delta 6$ y $\Delta 9$ (contando desde el extremo carboxilo), pero nunca más allá de la posición $\Delta 9$. Por el contrario, los vegetales pueden introducir dobles ligaduras en las posiciones $\Delta 6$, $\Delta 9$, $\Delta 12$ y $\Delta 15$ y de esta manera pueden sintetizar AG en la nutrición. Los dobles enlaces introducidos en los AGMI, se separan siempre uno de otro por un grupo metileno (interrupción metilénica), excepto en las bacterias. En los animales, los dobles enlaces adicionales son introducidos entre el enlace doble existente y el grupo carboxilo, pero en las plantas pueden también ser introducidos entre el doble enlace existente y el carbono del grupo metilo terminal (Blanco, 1997).

Así, dado que los animales tienen una $\Delta 9$ desaturasa, son capaces de sintetizar completamente la serie n-9 o familia de AGMI mediante una combinación de alargamiento y desaturación de la cadena. Sin embargo, ya que no son capaces de sintetizar los AG n-6 y n-3, al estar ausentes las

desaturasas requeridas, éstos ácidos necesitan ser suministrados en la alimentación para que se efectúe la síntesis de los demás miembros de las series n-6 y n-3 de los AGPI. El requerimiento nutricional de araquidónico, puede omitirse, si hay linoleico en la alimentación (Mayes, 1997).

Los lípidos de la yema, no son sintetizados en el ovario sino en el hígado. De hecho, más del 95 % de la síntesis de AG tiene lugar en este órgano. Una vez sintetizados, los triglicéridos son incorporados a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) que serán el vehículo de transporte de las grasas entre el hígado y tejidos extrahepáticos tal como el ovario (Escribano, 1991).

Las lipoproteínas (VLDL) del plasma se incorporan a los ovocitos por endocitosis mediada por receptores específicos de la membrana celular. Para que estas lipoproteínas de la yema se sinteticen en el hígado, se precisa la acción de los estrógenos sexuales. Al comienzo de la puesta se incrementa el peso y contenido lipídico del hígado, así como la concentración lipídica en sangre como consecuencia de la acumulación de lipoproteínas de muy baja densidad ricas en triglicéridos (Nimpf y Schneider, 1991).

El ovario no está involucrado en ningún aspecto del metabolismo de los AG, excepto en la transferencia de lípidos del plasma a la yema (Moran, 1996).

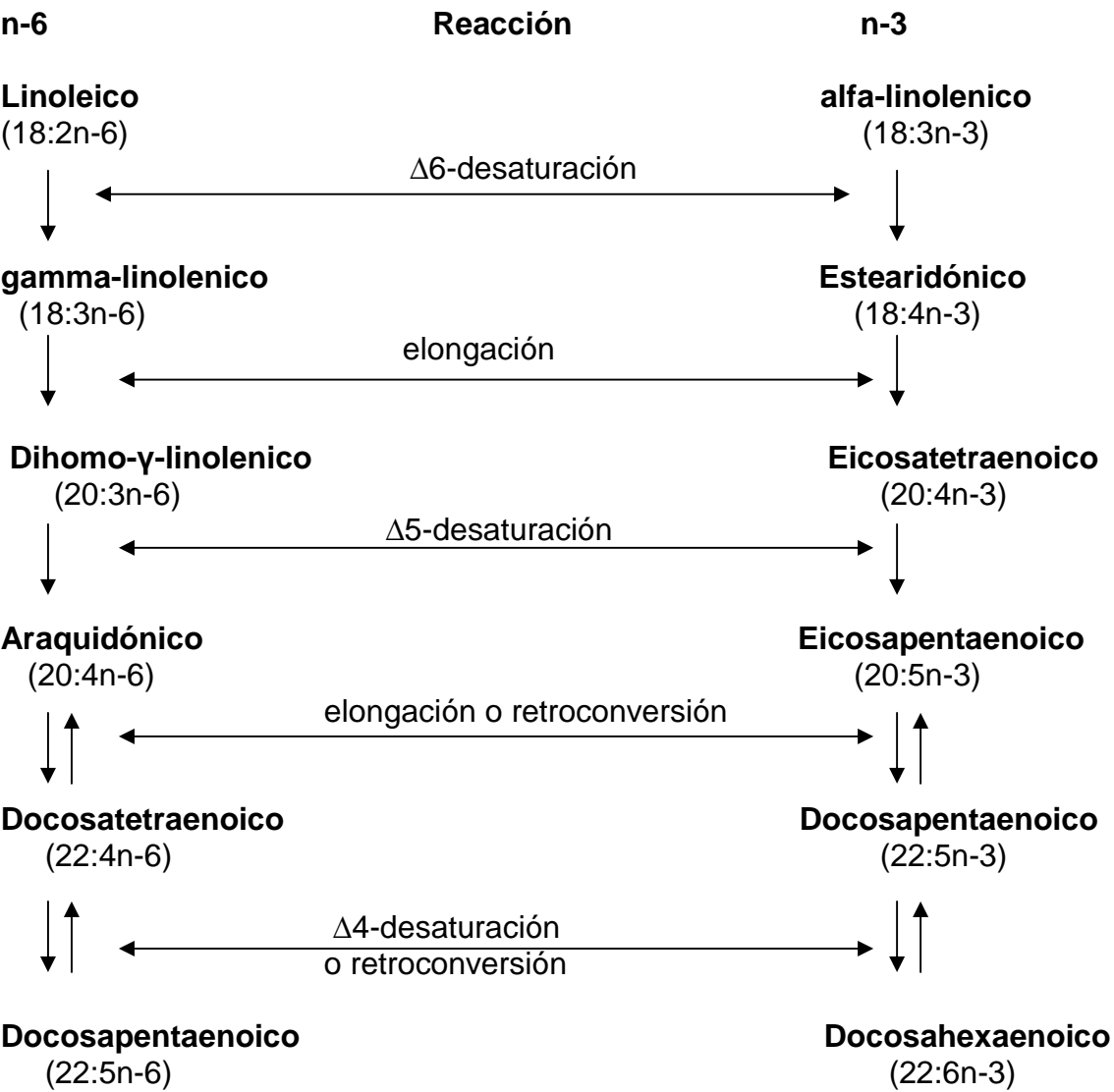
Por lo tanto, la transferencia es directa y la composición de AG es similar. Debido al proceso de formación, la composición de los lípidos de la yema depende en gran parte de la composición de la ración; pudiendo de esta manera modificar la composición lipídica de la yema, a través de la manipulación de la alimentación de las aves (Mateos, 1991).

La oxidación de AG en el hígado también puede disminuir la disponibilidad de EPA en los tejidos, en particular la oxidación de AGPI de cadena larga, los cuales son altos en peroxisomas. Sin embargo, en los individuos saludables, a pesar de los numerosos factores que pueden influenciar la disponibilidad de EPA, en la mayoría de los casos una dieta regular y balanceada cumple con los requerimientos en los tejidos de EPA, n-6 y n-3 (Bèzard, 1994).

A continuación en la figura 8, se resume lo expresado anteriormente, acerca del camino más común por el cual los AGI de las familias n-6 y n-3, son

convertidos en AGPI de cadenas largas en los tejidos animales tal como lo presenta Sprecher, (1981).

Fig 8. Conversión de los AGPI de cadena larga en los tejidos animales.



5.3.4- MODIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE COLESTEROL EN HUEVO

Como se mencionara anteriormente, en la mayoría de los países con un elevado nivel de vida, la grasa de la dieta constituye más del 35% de las calorías consumidas. Durante los últimos 20 años se han publicado numerosos trabajos acerca del papel de la grasa de la dieta como factor de riesgo en las enfermedades coronarias. Las enfermedades cardiovasculares suponen el 50% de las causas de mortalidad en los países desarrollados y entre los factores de riesgo se encuentran la grasa saturada y el colesterol dietético. Las autoridades sanitarias recomiendan reducir el consumo de grasas de origen animal y el colesterol, por lo que el huevo, debido a su concentración en estos nutrientes, se incluye dentro de los alimentos "a controlar".

La opinión general de los organismos que marcan las recomendaciones dietéticas, es que la incidencia de tales desórdenes se reduciría y la salud de los consumidores mejoraría disminuyendo el consumo total de grasa; más específicamente, los efectos beneficiosos se derivarían de una reducción en el consumo de colesterol, acompañada por un cambio en la ingestión de grasas evitando las saturadas, en favor de las insaturadas (Noble y Cocchi, 1990).

Debido a que el colesterol se encuentra exclusivamente en los productos de origen animal y a la creencia popular de que la grasa de origen animal es saturada, mientras que la de origen vegetal es insaturada, la discusión se ha centrado en torno a la grasa de origen animal.

El huevo, como producto de origen animal, rico en colesterol, es uno de los alimentos más cuestionados. Aunque numerosos trabajos indican que la ingestión de colesterol tiene un efecto insignificante sobre su concentración en plasma de personas sanas (Brisson, 1986), el consumidor sigue demandando productos con bajo contenido en colesterol.

El importante papel jugado por el huevo en la alimentación humana gracias a sus excelentes propiedades nutritivas, hizo que el sector avícola y equipos de investigadores trabajaran conjuntamente, conscientes de la demanda del consumidor y en beneficio de la salud pública y que hayan dedicado importantes esfuerzos en modificar la composición nutritiva de los

huevos, ya sea, intentando reducir el nivel de colesterol y grasa saturada, o alternativamente, enriqueciéndolos con ácidos grasos insaturados, vitaminas y minerales beneficiosos para la salud. Tendiendo de esta manera, a minimizar la posible tendencia a reducir su consumo, en un intento de resolver de forma simplista un problema de salud complejo, relacionado con todo un estilo de vida.

El colesterol es un componente lipídico que se encuentra en cada una de las células de los animales y en sus productos (leche, carne, huevos); entre sus funciones destaca el papel estructural como componente de las membranas celulares. Como se mencionó, es necesario para la producción de sales biliares que intervienen en los procesos digestivos y es precursor de varias hormonas. Es molécula clave en la producción de vitamina D3, y en la absorción de calcio y fósforo. En otras palabras, el colesterol es esencial para la vida de los animales y sin él, todos los animales, incluyendo el hombre, morirían.

Las investigaciones encaminadas a reducir el contenido en colesterol del huevo han sido escasas, debido probablemente a la importancia del colesterol en el desarrollo embrionario del pollito, que carece de las enzimas necesarias para su síntesis. Existen excelentes revisiones sobre el tema, tales como las realizadas por Naber (1993); Hargis (1988); Jiang *et al.*, (1991a); Santomá (1992); Griffin (1992, 1993); North (1993) y Hermier (1994a); los mismos concuerdan en las siguientes conclusiones, sobre los factores que pueden modificar el contenido de colesterol.

Componente genético

El nivel de colesterol en el huevo varía entre especies, razas o estirpes, pero su heredabilidad es baja (0,04 a 0,26) e indica el escaso potencial que existe para modificaciones mediante selección genética. Trabajos experimentales indican que la selección genética puede disminuir los niveles de colesterol de huevo en un 5 a 7%. Es de suponer que la selección natural favorezca la formación de un huevo con una cantidad mínima de nutrientes necesarios para el correcto desarrollo del embrión. La selección realizada

durante los últimos años ha incrementado la proporción de clara por lo que el contenido en colesterol del huevo se ha visto indirectamente reducido.

El contenido de colesterol del huevo, difiere según la variedad de las gallinas, por ejemplo las ponedoras tienen menos colesterol que las gallinas para carne. Las gallinas de alto valor productivo tienen menos colesterol en huevo, que las de baja postura. La gallina Araucana tiene mayor contenido de colesterol en huevo, que la de huevos marrones y ésta a su vez, más que la de huevos blancos.

Manejo

A medida que aumenta la edad de la gallina se incrementa el contenido en colesterol del huevo, a pesar de que disminuye su concentración en la yema (mg/g yema). Esto es debido a que el incremento de peso de la yema es mayor que la disminución de su concentración en colesterol. El factor que determina el contenido de colesterol del huevo es el peso de su yema.

Efectos nutricionales

Se han estudiado diferentes posibilidades con resultados contradictorios y, en cualquier caso, de eficacia dudosa y con escasa aplicación comercial. Altos niveles de grasa insaturada y la suplementación de la dieta con colesterol aumentan el contenido en colesterol del huevo. La adición de esteroides vegetales ha dado resultados variables. Niveles elevados de fibra, especialmente alfalfa, reducen el nivel de colesterol en huevo de forma moderada, por ejemplo con un 8 a 10% de fibra en la dieta, se puede llegar a disminuir el contenido de colesterol hasta en un 13%.

La reducción en la ingesta energética disminuye tanto el nivel de colesterol como la producción de huevos.

Efectos farmacológicos

Se han probado varios medicamentos con efectos hipocolesterolémicos que actúan reduciendo la síntesis de colesterol o aumentando su eliminación, mediante la formación de ácidos biliares o esteroides neutros. Algunas de estas

sustancias (triparanol, azasterol, probucol, lovastatina) son efectivas en la reducción del nivel de colesterol. Por el contrario, la D-tiroxina lo incrementa. El principal inconveniente radica en que dichas sustancias, o alguno de sus metabolitos, se depositan en el huevo por lo que son comercialmente inaceptables.

Las razones de la falta de éxito aparente en el intento de reducir el nivel de colesterol, estarían dadas porque la composición lipídica de la yema, está determinada por la composición de las lipoproteínas del plasma, no por su concentración. Dado que gran parte del colesterol en las lipoproteínas está asociado con las capas superficiales de las mismas, la reducción de su contenido en colesterol sólo será posible si se incrementa su tamaño.

Desafortunadamente, sólo serían posibles pequeños incrementos de tamaño porque las lipoproteínas precursoras de la yema necesitan ser lo suficientemente pequeñas para poder pasar a través de las paredes foliculares.

Por lo tanto, para reducir el contenido en colesterol del huevo, debería pensarse en la manipulación genética de los procesos involucrados en la síntesis y transporte de lipoproteínas hacia el folículo.

Las reducciones marginales que podemos conseguir en la actualidad no supondrían en el mejor de los casos más de un 10-20% del colesterol total de la yema del huevo, lo que resultaría en una reducción insignificante (3-4%) en el colesterol total consumido por una persona. Desde un punto de vista práctico sería necesario reducir el nivel de colesterol en el huevo del 30 al 50% para que tenga una oportunidad comercial sólida.

Como se mencionara más arriba, la principal influencia de la alimentación sobre el nivel de colesterol plasmático, se relaciona con el tipo de grasa ingerida y no con la cantidad de colesterol en el alimento; de ahí, la relevancia de analizar el perfil de AG de los lípidos del huevo, y estudiar las posibilidades de modificarlo.

5.3.5. MODIFICACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO DEL HUEVO

Las grasas de origen animal son popularmente consideradas como saturadas y las de origen vegetal insaturadas. En realidad, los dos tipos de grasas contienen AGS, AGMI y AGPI, aunque los porcentajes varían en cada caso.

El interés en los AGS y AGPI, en relación con las enfermedades cardiovasculares, se remonta a los años 50 cuando varios investigadores consideraron que el consumo de grasas vegetales ricas en AGPI, podrían ayudar a disminuir el nivel de colesterol en sangre (Kinsella *et al.*, 1990; Knapp, 1991). Diversos estudios epidemiológicos han correlacionado positivamente el consumo de AGS con la incidencia de enfermedades cardiovasculares por su efecto hipercolesterinémico. Se estima que este efecto varía según el tipo de AGS, por ejemplo, el del ácido mirístico (C14:0) es muy marcado, el del ácido palmítico (C16:0) no lo es tanto y el ácido esteárico (C18:0) parece no tener efecto alguno (Brisson, 1986).

La capacidad de los AGPI principalmente el n-6, para reducir la concentración de colesterol en plasma, es aproximadamente la mitad de la que tienen los AGS para aumentarla; por esto, en los últimos años se ha insistido en la importancia de aumentar la relación P/S (AGPI/AGS) en la dieta.

Estudios más recientes, no dan tanta importancia a esta relación y hacen hincapié en los efectos positivos de los AGMI (oleico), tradicionalmente ignorados, y en los AGPI de la familia n-3 (ALA, EPA y DHA) a este particular (Butcher y Miles, 2000).

La composición en AG de la yema del huevo, particularmente su contenido en AGI, puede ser modificada mediante cambios en la dieta de la gallina. En 1934, Cruickshank realizó un trabajo para estudiar la influencia de la dieta sobre la composición lipídica de la yema y concluyó: a- la dieta influye poco en el porcentaje de grasa del huevo; b- la composición en AG de la grasa de la yema, es modificable por la dieta y c- los AGI de la dieta cambian las proporciones de los AG presentes en la yema.

Hargis y Van Elswyk (1993), señalan que elevar el nivel de grasa saturada en la dieta tiene menos influencia sobre la composición de la grasa de la yema.

Tipo y cantidad de grasa añadida a la dieta influyen en la composición de los AG del huevo. A medida que la gallina consume la nueva dieta, el perfil de AG del huevo va cambiando paulatinamente, hasta estabilizarse a los 12-15 días (Ohtake y Hoshino, 1976).

Con una dieta baja en grasa, la mayoría de los AG de la yema proceden de la síntesis *de novo*, mientras que con una dieta muy rica en grasa añadida (30% aceite de girasol), más del 80% de los AG en los triglicéridos de la yema proceden de los AG de la dieta (Naber y Biggert, 1989). Aún con diferencias importantes en el porcentaje de grasa de la dieta, el porcentaje de grasa en la yema permanece estable en torno al 33% (Noble y Cocchi, 1990).

Los primeros trabajos experimentales que intentaron modificar la composición lipídica del huevo mediante la dieta, tenían como objetivo incrementar la relación P/S del huevo mediante la adición de grasas a la dieta. Estos trabajos lograron sus objetivos sólo en parte, debido fundamentalmente a la dificultad de reducir el porcentaje de AGS, independientemente del tipo de grasa añadida.

Cuando se añaden a las dietas grasas ricas en AGS de cadena corta (caprílico, C8:0; cáprico, C10:0 y láurico, C12:0), como sucede por ejemplo con el aceite de coco, sólo el láurico se deposita en el huevo, y siempre en porcentajes muy bajos (< 2% del total de AG). Los AG de cadena corta suministrados por la dieta son rápidamente catabolizados o convertidos por la gallina en AG de cadena más larga. En cambio, los AGS de más de 14 átomos de carbono, sí son depositados en la yema. Niveles elevados de AGS en la dieta modifican escasamente el perfil de AG del huevo (Sim y Bragg, 1978).

La incorporación de AGMI en la dieta (por ejemplo con aceite de oliva, rico en ácido oleico), incrementa el nivel de este AG en la yema del huevo a expensas, principalmente, de los AG palmítico, palmitoleico y esteárico, aunque la eficiencia de deposición del oleico es menor que la de los AGPI (Pankey y Stadelman, 1969; Grobas y Mateos, 1996).

El incremento de los AGPI, en la dieta aumenta la proporción de AGPI en la yema; el proceso metabólico, gracias al cual estos AG de la dieta son transformados y depositados en la yema del huevo, no es todavía bien conocido en las aves.

Hermier (1994b), describe que cuando la gallina recibe una dieta rica en ácido γ -linolénico (C18:3 n-6), la yema del huevo no se enriquece en γ -linolénico sino en araquidónico. Según Watkins (1991), el motivo sería la rápida elongación del γ -linolénico en dihomo- γ -linolénico (C20:3 n-6) y posterior desaturación de éste, para dar araquidónico.

La incorporación de aceites vegetales ricos en n-6 o en ALA en la dieta de la gallina conlleva un aumento en la concentración de ambos AG en la yema del huevo, y una reducción de la concentración de oleico (Cruickshank, 1934; Fisher y Leveille, 1957; Sell *et al.*, 1968).

Según Naber (1979), bajo una amplia gama de condiciones de alimentación, la suma de los contenidos de los tres AG principales de 18 átomos de carbono (oleico, linoleico y α -linolénico), tiende a ser aproximadamente constante.

Murty y Reiser (1961) consiguieron demostrar, utilizando aceite de cártamo hasta niveles del 20% de la dieta, que el nivel máximo de n-6 en el huevo es inferior al 40%. Estos mismos autores muestran que el nivel máximo de ALA en huevo que se consigue con una dieta rica en aceite de lino es inferior al 15%. No hay una explicación obvia para esta menor incorporación del ALA que de n-6 en la grasa del huevo. En estos trabajos la concentración de oleico en el huevo disminuyó hasta el 25%.

También Murty y Reiser (1961), comprobaron que la tasa de incorporación de un AG en el huevo disminuye cuando se incorpora otra grasa a la dieta debido a un efecto de dilución; así al adicionar sebo a varias dietas experimentales, con cantidades constantes de n-6 y ALA, disminuían los niveles de estos AG en el huevo. De hecho, el nivel de n-6 en el huevo pasó de un 24% cuando se usaba la dieta experimental sin otras grasas, a un 11 % cuando se añadió un 5% de sebo.

Jiang *et al.* (1991b), expresan que la inclusión en la dieta de AGPI de cadena muy larga (C20 y C22) también se ve reflejada en un incremento de los mismos en la yema del huevo, tal como sucede al incorporar aceites de pescado a la dieta. Estos AG también aumentan si la dieta es rica en alguno de sus precursores. Así, niveles elevados de n-6 van acompañados por incrementos en araquidónico. La ingestión de ALA incrementa los niveles de DHA y EPA.

En un trabajo realizado por Grobas y Mateos (1996), utilizando aceite de soja y aceite de lino se ponen de manifiesto las interacciones entre los AG de la familia n-3, representados por el ALA, y los de la familia n-6 representados por el n-6. Ambas familias usan el mismo sistema enzimático en sus procesos de elongación y desaturación y por lo tanto un exceso de n-6, generalmente predominante en la dieta, secuestra parte de las enzimas para dar lugar a ácido araquidónico, limitando la conversión de ALA en EPA y DHA. Por el contrario, concentraciones elevadas de ALA actúan en sentido contrario incrementando los niveles de EPA y DHA en la yema y reduciendo el de araquidónico. Se observaron así que las variaciones en los contenidos de AG de la yema, no se producen de forma uniforme entre los distintos tipos de grasa de la yema.

Autores como Jiang *et al.* (1991b); Cherian y Sim (1992) indican que los AG de cadena larga pertenecientes a la familia n-3 se depositan exclusivamente en los fosfolípidos y, preferentemente, en la fracción fosfatidiletanolamina; el incremento de oleico y de ALA en la yema se centró principalmente en los triglicéridos; y la incorporación de n-6 se distribuyó tanto entre los triglicéridos como entre la fracción de fosfatidilcolina de los fosfolípidos del huevo.

Los AG de cadena impar no pueden ser sintetizados por las aves, por lo que su aparición en la yema se debe a su presencia en la dieta. Esto sucede principalmente al utilizar grasas animales procedentes de rumiantes, como por ejemplo el sebo (Grobas y Mateos, 1996).

Grobas y Mateos (1996), señalan que en Estados Unidos alrededor del 95% de la "grasa amarilla" procedente de los restaurantes se utiliza en la alimentación animal. Esta grasa contiene isómeros *trans* tales como el ácido

elaídico (C18:1 t9); estos AG *trans* parecen tener efectos similares a los de los AGS sobre el nivel de colesterol en la sangre. Además, pueden afectar el metabolismo de los AGE bajo ciertas condiciones. Por ello, es importante analizar el comportamiento de estos AG en la gallina y la posible deposición en el huevo por las implicancias que podría tener en relación con la salud humana.

Lanser *et al.* (1978) estudiaron el metabolismo del n-6 y el linoleidato (isómero *trans* del linoleico) y observaron que, aunque ambos isómeros se digerían bien, el ácido araquidónico encontrado en los fosfolípidos de la yema del huevo, derivaba exclusivamente del n-6. El linoleidato se encontró tanto en los triglicéridos como en los fosfolípidos de la yema.

En otro trabajo Lanser y Emken (1987) comprobaron como el (C18:1 t10), uno de los isómeros *trans* del oleico, se incorporaba en la grasa del huevo al ser añadido a la dieta, aunque de forma menos eficiente que el oleico.

Otra consideración importante a tener en cuenta a la hora de decidir si se utiliza pescado (aceite o harina); algas marinas o una fuente vegetal terrestre (semillas o aceites) para enriquecer los huevos en AG n-3, es el posterior metabolismo de estos AG en los vertebrados, debido a la baja eficiencia de transformación de ALA a EPA y DHA. No todos los n-3 de la dieta son biológicamente equivalentes y no existe clara evidencia de los efectos beneficiosos para la salud humana del ALA. Por ello, es importante considerar no sólo el total de AG de la familia n-3 sino también los AG específicos de esta familia.

Entre los trabajos publicados estudiando el efecto del consumo de huevos enriquecidos en n-3 sobre el perfil lipídico en humanos; se encuentran Oh *et al.* (1991), quienes observaron que en individuos que consumían cuatro huevos diarios procedentes de gallinas alimentadas con un pienso con un 10% de aceite de pescado (más EPA), no se incrementó el nivel de colesterol en sangre y sí que se redujo su nivel de triglicéridos. La corta duración del estudio y el alto nivel de aceite de pescado en la dieta, que daría lugar a sabores indeseables, limitan el interés práctico de las conclusiones de ese trabajo.

Posteriormente, Farrell (1998) realizó otro trabajo con voluntarios consumiendo siete huevos enriquecidos por semana durante 5 meses. Ni el

nivel de colesterol en plasma ni el de triglicéridos se vieron modificados de forma significativa. El consumo de estos huevos produjo modificaciones en el perfil lipídico del plasma, similares a las de otras fuentes de n-3, pasando la relación n-6/n-3 de 12 a 7, próximo al ideal recomendado por las instituciones sanitarias (en torno a 5).

Después de esta revisión anatómica y fisiológica del aparato reproductor de la gallina y concluyendo en su producto final, el huevo; se puede inferir en que el huevo no evolucionó como alimento humano, sino como un sistema de reproducción para el ave. Por lo tanto, sería prudente tanto para los genetistas como para la industria avícola en general considerar que si nos desviamos demasiado de su composición o estructura original se podría inhibir esta importante función. Un ejemplo de esto fue el intento de reducir el contenido de colesterol de los huevos comerciales por selección genética. Cuando el nivel de colesterol se redujo por selección, la producción de huevos aumentó temporalmente. Pero poco después, declinó la incubabilidad, y la población de aves sometida a selección ya no pudo mantenerse. Había un nivel umbral de colesterol, bajo el cual el embrión en vías de desarrollo no podía sobrevivir. Ya que el colesterol es un componente de cada célula, y como el número de células en el embrión aumentan exponencialmente, esto no debería sorprendernos (Hunton, 2002). Algo semejante ocurrió cuando se quisieron disminuir genéticamente las manchas de sangre y carne en los huevos; se alcanzó el objetivo pero al consumidor le llegó un producto muy pobre en calidad.

También Hunton (2002), expresa que la mayoría de los factores de calidad que los productores ven como importantes tienen niveles relativamente altos de heredabilidad, y por consiguiente pueden ser mejorados mediante la genética. Lo mismo se aplica para factores del rendimiento como el porcentaje de sólidos de la yema y el nivel de proteínas de la albúmina. Por esto los genetistas deben seguir asignando sus prioridades en el contexto de dos mercados separados: el de los huevos en su cáscara y para procesado ulterior.

Uno de los desarrollos más positivos en la producción y comercialización de huevos con cáscara durante la última década, ha sido, la evolución de los llamados “Huevos Diseñados” que cuentan con un valor nutritivo reforzado. El término fue acuñado por el Dr. Jeong Sim, de la Universidad de Alberta, Canadá, cuando produjo los primeros huevos enriquecidos con n-3 en 1989. Sin embargo, el principio se ha extendido mucho desde ese tiempo y hoy también se los puede encontrar en la literatura como huevos enriquecidos o denominados también como alimentos funcionales (Silveira-Rodríguez *et al.* 2003).

5.4- ACCIÓN BIOLÓGICA E IMPORTANCIA BIOMÉDICA DE LOS ÁCIDOS GRASOS.

5.4.1- RECOMENDACIONES DIETÉTICAS DE N-3.

En los últimos años, ha cobrado interés público la relación entre la ingestión de n-3 y las enfermedades coronarias. Si bien se están realizando estudios científicos de relevancia en el tema aún quedan muchos interrogantes por dilucidar al respecto. Es probable que el consumo de estos AG concentre más atención en el futuro, no solamente de aquellos consumidores en riesgo por enfermedades coronarias, sino también por personas que se preocupan por sus hábitos alimentarios.

Desafortunadamente, las dietas occidentales no siempre están bien balanceadas con AG n-3; de ahí la necesidad de concientización a la población a través de la educación y acceso a la información adecuada.

Por este motivo, los diferentes procedimientos que puedan ser empleados en la alimentación de las gallinas ponedoras para hacer variar la composición lipídica de sus huevos son una herramienta de utilidad por ser un alimento accesible, altamente nutritivo, de fácil cocción y digestión.

A la hora de elegir los alimentos por lo menos en la población occidental, existe una contradicción; ya que por un lado en los últimos años, las personas han ido tomando conciencia sobre la importancia que tiene la alimentación en su salud. Esto se ha reflejado en un cambio en los hábitos alimentarios, sobre todo en lo referente a la cantidad y composición de grasa de la dieta. Así es que, las recomendaciones dietéticas van dirigidas a reducir el consumo de grasas saturadas y paralelamente aumentar el de grasas poliinsaturadas, ya que los AGPI han demostrado tener un efecto positivo en la prevención de la aparición y desarrollo de patologías cardiovasculares y carcinogénicas (Kinsella *et al.* 1990; Knapp, 1991). Por eso, algunos organismos de salud recomiendan dietas en las que los AGPI y los AGMI no aporten más de un 30 % de las calorías totales de la dieta, mientras que los AGS aporten un máximo de un 10 % según lo expresan (Krauss *et al.* 2001).

Esto es ampliado por Kris-Etherton *et al.* (2003) quienes detallan que las recomendaciones sugeridas por la AHA (1988) son: a) las personas adultas han de consumir pescado al menos dos veces por semana; b) para pacientes con enfermedad coronaria las recomendaciones de consumo son de 1 gramo diario de EPA+DHA procedente de aceites de pescado o suplementos; y c) para pacientes con hipertrigliceridemia se recomienda el suplemento de 2 a 4 gramos diarios de EPA + DHA a fin de disminuir en un 20 - 40% los niveles de triglicéridos del plasma.

Por su parte, los Comités Internacionales de Nutrición, Alimentación y prevención de enfermedades crónicas convocados por FAO/OMS (2003), han establecido que las grasas en general no deberían aportar más de un 30% de las calorías totales que consume un adulto; recomendando que la distribución de los distintos tipos de AG corresponda, dentro de ese 30%, a un aporte del 10% por parte de AGS, un 10% de AGMI y un 10% de AGPI, incluyendo éstos un consumo del 1-2% de AG n-3. Esto es una relación 1:1:1 entre AGS, AGMI y AGPI respectivamente.

También la Sociedad Internacional para el Estudio de Ácidos Grasos y Lípidos (ISSFAL, 2004) hace su aporte a las recomendaciones nutricionales de ingesta de AG n-3, y sugiere la cantidad de 0,65 g/día de DHA más 1 g/día de ALA (Simopoulos, 1999a).

Según lo publicado por (Hepburn *et al.*, 1986; Hulshof *et al.*, 1999; Sanders, 2000), las estimaciones realizadas sobre la ingesta de AG n-3 se basan principalmente en los datos sobre consumo de alimentos y los análisis químicos de las dietas. El consumo aproximado de ALA en los países europeos oscila entre 0,6 y 2,5 gramos/día. Quizás se deba a un mejor poder adquisitivo y mayor concientización de la población. Sin embargo, hay pocos datos disponibles.

Pero por otro lado, no es difícil apreciar que nuestra alimentación, está muy lejos de aportar las cantidades y las proporciones de AG establecidas por los Comités de Expertos. A esta apreciación se suma la opinión de especialistas como HU *et al.* (2001), quienes consideraron que más importante que la cantidad de grasa consumida, es la calidad de ésta, particularmente en

relación a su aporte de AG n-6 y n-3.

En esta revisión bibliográfica Nelson y Cox (2000) describen que en la década de los setenta, investigadores como Bang y Dyerberger observaron que los esquimales de Groenlandia, los japoneses, los coreanos y los taiwaneses, consumían una dieta muy alta en grasa proveniente de lobos marinos, focas, ballenas y peces, y en estas poblaciones la incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer, hipertensión, artritis reumatoidea, violencia y depresión, etc., era muy baja, lo cual estaría relacionado con el elevado consumo de EPA y DHA ambos de la familia de los AG n-3, presentes en esta grasa de origen marino.

Asimismo Simopoulos (1999b) a partir de los años 80 reconoce la importancia de los n-3 en la función visual y cerebral de los niños y adultos; por lo que durante las siguientes décadas, hubo un interés considerable por parte de la comunidad científica en estudiar los beneficios que aportan los AG n-3 cuando se los incluye en la dieta de humanos y otros animales.

Según Butcher y Miles (2000), en las dos últimas décadas ha habido un aumento considerable de estudios sobre las grasas y los aceites de la dieta, además del impacto que tienen en la nutrición y salud animal. Antes de que se entendiera que las grasas y aceites son esenciales en la dieta, se creía que únicamente aportaban energía. A medida que se conocía más sobre la función de los AG, especialmente los poliinsaturados, la comunidad científica fue enfocando sus investigaciones a la promoción de los beneficios para la salud que los AG n-3 y n-6 proporcionan.

Los estudios de investigación comenzaron a profundizar sobre el metabolismo de las grasas no solo en el humano, sino en los animales en general, para luego poder interrelacionarlos. De estos trabajos se obtuvieron resultados como los que veremos a continuación.

Existen amplias variaciones entre especies en la disposición de las principales vías lipogénicas en los tejidos y en substratos principales para la síntesis de AG. En la rata, una especie que ha proporcionado gran parte de la información acerca de la lipogénesis, la vía se efectúa de preferencia en el tejido adiposo del hígado, en tanto que en el hombre el tejido adiposo puede no

ser un sitio importante y el hígado sólo manifiesta escasa actividad. Dado que la vía de lipogénesis puede ser de poca importancia en el hombre, no sorprende que se carezca de informes acerca de enfermedades críticas de ella (Mayer *et al.* 1996).

En las aves, la lipogénesis se confina al hígado, donde su importancia es particular para proporcionar lípidos utilizados en la formación del huevo. En muchos mamíferos, la glucosa es el substrato primario para la lipogénesis, pero en los rumiantes este papel lo desempeña el acetato, que es la principal molécula combustible producida por la dieta.

Se determinó, que el n-6 influye sobre la fluidez de las membranas celulares animales y también sobre la función de las enzimas y receptores de las membranas celulares. Una vez que el n-6 se convierte en un AGPI de cadena más larga: el ácido araquidónico, el animal puede convertirlo en otros AG importantes de cadena larga que actúan como mediadores biológicos. Entre éstos se incluyen a las prostaglandinas que actúan como hormonas y son importantes en la reproducción (están altamente concentradas en el fluido seminal); en la contracción muscular; en la transmisión de impulsos nerviosos y en el control de la presión sanguínea.

Investigaciones realizadas por (Yehuda *et al.* 1999; Bruinsma y Taren, 2000; Bourre y Galea, 2006) coinciden en que los AGE juegan un rol activo en el funcionamiento de las membranas neuronales, es que ellos corresponden al 45% de los AG presentes en las membranas sinápticas, por lo mismo se considera que los AGPI y el colesterol, son los principales determinantes de las propiedades biofísicas de las membranas neuronales. Como ejemplo de la importancia de los AGPI de cadena larga en la constitución del sistema nervioso central (SNC), se puede considerar que el cerebro contiene una alta concentración de estos ácidos, que corresponde a alrededor del 20% de su peso seco y en el SNC uno de cada tres AG es poliinsaturado.

No se puede dejar de mencionar la importancia de los AG n-3 para la formación y funcionamiento del SNC. El desarrollo del SNC, particularmente del cerebro, se lleva a cabo en el humano durante el último trimestre del embarazo; es en este período donde comienza en forma activa la formación de las

neuronas y donde el requerimiento de DHA aumenta considerablemente. En efecto, el cerebro de los primates acumula este ácido en la vida intrauterina y durante el primer año de vida (Clandinin *et al.* 1980; Valenzuela y Nieto, 2001).

En el útero, el DHA es aportado desde las reservas de la madre, esto produce que la concentración de DHA en el cerebro (donde llega a constituir el 40% del contenido de AGPI de cadena larga) es mayor que la concentración en el plasma fetal y ésta, a su vez, mayor que la de placenta y plasma materno. La barrera hematoencefálica es impermeable a los AGS, AGMI y al colesterol, los cuales deben ser formados por el cerebro, en cambio es permeable a los AG n-6 y n-3, permitiendo así su aporte externo. En las etapas tardías del último trimestre gestacional, los astrocitos adquieren la función de suplir con DHA a las neuronas en formación. Los AG n-3 también son esenciales para el tejido visual, estructura derivada del SNC, que al igual que el cerebro tiene una extraordinaria capacidad para captar DHA desde el plasma. En la retina, el DHA forma parte de los fotorreceptores de los conos y bastoncitos. Estas estructuras de la membrana, asociadas a la rodopsina, participan en la conversión del estímulo luminoso a eléctrico y en los procesos de transducción de señales que acompañan a este fenómeno. No hay evidencias que la retina pueda sintetizar DHA a partir de sus precursores. Sin embargo, este AG es continuamente reutilizado en el tejido, ya que el recambio de los conos y de los bastoncitos es muy activo (Valenzuela y Nieto, 2001).

Entre los posibles mecanismos de acción de los AGPI n-3, aunque aún no está claro, se han propuesto varios mecanismos posibles por los cuales ejercerían su efecto protector; entre ellos se ha descrito la capacidad que tienen los AG n-3 para influenciar la coagulación sanguínea y la trombosis, el perfil de los lípidos plasmáticos, la presión sanguínea, la arritmia y la inflamación. Los efectos ateroprotectores derivados de la ingesta de AGPI n-3 provienen principalmente de su incorporación a los fosfolípidos de las membranas de las células, sustituyendo parcialmente el ácido araquidónico como sustrato inicial para la producción de eicosanoides (Carrero *et al.* 2005).

Cuando las células vasculares sufren algún tipo de daño, se desencadena el proceso de agregación plaquetaria; los intermediarios

derivados del metabolismo de los AGPI n-3 son menos protrombóticos y vasoconstrictores que los derivados procedentes del araquidónico (n-6). El contenido en AG de las plaquetas origina la producción de tromboxano A2 a partir de la familia n-6, o de tromboxano A3 a partir de la familia n-3. Este último posee un efecto proagregante menor que el tromboxano A2, reduciendo, por tanto, la agregación plaquetaria y la trombosis (Connor, 2000).

Otras investigaciones realizadas por (Siscovick *et al.* 1996; De Deckere *et al.* 1998), confirman que un músculo cardíaco enfermo es susceptible de sufrir irregularidades en la actividad eléctrica (arritmias), que en muchas ocasiones son la causa de muerte súbita cardíaca. La proporción de AG n-3/n-6 en el músculo cardíaco parece estar relacionada con el riesgo de muerte súbita cardíaca. Se ha sugerido que la ingesta moderada de AGPI n-3 puede reducir el riesgo de paro cardíaco como consecuencia del efecto regulador que estos AG ejercen sobre las propiedades eléctricas del miocardio, disminuyendo por tanto la susceptibilidad a las arritmias ventriculares y, por consiguiente, el riesgo de muerte súbita.

También se sabe de acuerdo a lo expresado por Butcher y Miles (2000), que las prostaglandinas inhiben la respuesta inmune en animales, razón por la que los niveles altos de n-6 en la dieta se han relacionado a la disminución de la respuesta inmunológica en las aves y otros animales; y que los componentes de los AGPI n-6 también son la base de otros compuestos del organismo que aumentan la tendencia a la coagulación de la sangre, incrementan la inflamación, constriñen las arterias y predisponen al corazón a las arritmias.

Contrariamente, los AG n-3 evitan que esto ocurra y son mejores protectores contra enfermedades cardíacas. Por lo tanto, una dieta con el balance apropiado entre n-6 y n-3 es necesaria como promotora de la buena salud. También, existe evidencia que el desbalance en la relación n-6/n-3 es un factor de riesgo mayor para enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares, reacciones alérgicas y cáncer. Los ácidos n-6 y n-3 compiten por las mismas enzimas pero tienen diferentes roles biológicos, por lo que un correcto balance entre ellos es de considerable importancia. Las dietas occidentales son deficientes en n-3 y altas en n-6, por lo que se recomienda

incrementar la ingesta de los primeros (Simopoulos, 2000).

Coincidentemente, Castro-González (2002) refiere a la importancia de mantener niveles adecuados de EPA y DHA durante la gestación y el crecimiento de los bebés, esto es primordial para un buen desarrollo y funcionamiento del cerebro y la retina. Su papel en la prevención de enfermedades vasculares y de cáncer está comprobado, así como su utilidad en el manejo de enfermedades como el SIDA, depresión, problemas de violencia o de trastornos por déficit de atención. Está demostrado, que nuestra dieta no ha cambiado lo suficiente como para lograr un acercamiento a las proporciones recomendadas y obtener todos los beneficios que se han señalado. De ahí la importancia de aumentar el consumo de AG n-3, particularmente EPA+DHA, y disminuir los n-6 en la dieta.

Es indudable que actualmente existen numerosas fuentes de estos AG en los alimentos comúnmente consumidos. La formulación de estos AG n-3 es un punto importante y los alimentos funcionales con un mayor contenido de n-3 están cada vez más disponibles. Los niveles apropiados del consumo de AG n-3 pueden determinarse dependiendo del estado de salud-enfermedad en que se encuentre cada individuo. El consenso actual es que los AG n-3 son componentes integrales de una dieta sana y que juegan un papel importante en la prevención de muchas enfermedades. Por lo tanto, no hay que olvidar que la unidad funcional de la alimentación es la dieta, de manera que no son los alimentos aislados –ni mucho menos sus componentes químicos– sino la dieta como un todo la que, junto con otros factores, puede contribuir al desarrollo o prevención de las enfermedades; teniendo en cuenta que la salud del individuo y de la población en general es el resultado de la interacción entre la genética y numerosos factores medioambientales.

Simopoulos (2001), afirma que la sociedad industrializada se caracteriza por un incremento en la ingesta de energía a partir de grasas saturadas, AG n-6, grasas trans y cereales. Mientras, que redujo el consumo de AG n-3, carbohidratos complejos como verduras y frutas, fibras, proteínas, antioxidantes y calcio entre otros; además disminuyó notablemente la actividad física y por ende, el gasto energético.

Por eso, se insiste en recomendar el aumento en el consumo de AGPI n-3, especialmente los de cadena larga (EPA y DHA), cuya fuente principal es el pescado (Schmidt *et al.* 2001). Sin embargo, las sociedades occidentales modernas tienden a incluir muy poco pescado en la dieta.

Una forma eficaz de aumentar la ingesta es la fortificación o la adición de AG n-3 a alimentos de uso cotidiano. La tecnología moderna de alimentos hace posible hoy en día que una gran cantidad de alimentos puedan enriquecerse en AG n-3 y, de hecho, existe en todo el mundo una gran variedad de productos alimenticios enriquecidos. Algunos ejemplos de estos alimentos que se comercializan en la casi totalidad de los países de Europa son el pan y los productos de panadería, margarinas, grasas untables, huevos y derivados, pastas, salsas, zumos, bebidas no alcohólicas, carnes, productos lácteos y leche (Trautwein, 2001).

Por otro lado, la evidencia científica muestra que tanto EPA como DHA pueden ejercer efectos benéficos en cuanto a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, sólo si la protección antioxidativa contra el estrés oxidativo es suficiente para minimizar el daño peroxidativo de los tejidos lipídicos (Song *et al.* 2000).

Esto coincide con lo expresado por Cherian *et al.* (1996), al sostener que incrementando el contenido de los AGPI de huevos y carne se incrementa el potencial de la oxidación de los lípidos, llegando a desarrollar sabores y olores desagradables, pérdidas de AGPI, y baja aceptación del consumidor. Por lo tanto, el mayor desafío consiste en un cambio en la composición de las grasas de la carne y huevos sin alterar sus características organolépticas. El mismo equipo de investigadores, determinó el efecto de la adición de tocoferoles en dietas con 3,5% de aceites de diferente grado de saturación (bacalao, lino, palma y girasol) sobre la composición de AG, el contenido de los tocoferoles y la estabilidad oxidativa de hígado, huevos, pechuga y muslo. La inclusión de tocoferoles en la dieta resultó en un significativo incremento de los EPA y DHA de las pechugas de las aves alimentadas con aceite de bacalao. Las carnes oscuras independientemente de las dietas, tienen una menor estabilidad oxidativa que las blancas. La adición de tocoferoles es efectiva

como antioxidante en las carnes blancas y oscuras, solamente en las aves que se alimentaron con aceite de bacalao.

Cuando las grasas son oxidadas adquieren un sabor rancio que compromete su palatabilidad. La tendencia que se observa en la industria, de incorporar grasas más saturadas para producir carcasas más sólidas, de mejor terminación y ahorrar costos, estaría negativamente correlacionado con el valor nutricional de la carne de pollo y huevo. Así también lo demuestran Guardiola Ibarz *et al.* (1994), afirmando que la oxidación del colesterol da lugar a la formación de oxiesteroles (OE), compuestos para los que se han descrito una serie de efectos biológicos (citotoxicidad, aterogénesis, mutagénesis, carcinogénesis, etc.), así, la determinación de estos compuestos en alimentos es un tema de creciente interés, tanto como posible parámetro de control, como para evaluar la ingesta de estos derivados a partir de los datos de consumo de alimentos.

Valenzuela *et al.* (2002), hacen referencia a que los oxiesteroles (OE) productos de la oxidación del colesterol, se forman cuando las materias primas o los productos terminados que contienen colesterol son sometidos a tratamientos térmicos, a agentes oxidantes, u otras condiciones físicas y/o químicas que facilitan la oxidación del colesterol. Si bien aún el mecanismo de formación no está del todo claro, se propone que los eventos moleculares que producen oxidación del colesterol son similares, y probablemente simultáneos a los que ocasionan la oxidación de los AG insaturados de las grasas y aceites.

También Valenzuela *et al.* (2002), describen numerosos efectos biológicos atribuibles a los OE, como la alteración de la estructura y función de las membranas celulares, y el cambio en la actividad y en la expresión de enzimas involucradas en la biosíntesis del colesterol. En otras actividades celulares, los OE afectan la coagulación de la sangre, y se ha propuesto que serían potencialmente más aterogénicos que el propio colesterol. La presencia de cantidades relativamente altas de OE en alimentos de consumo habitual es motivo de preocupación, por lo cual se busca desarrollar procedimientos que impidan su formación. Por ello, el rol de los antioxidantes sintéticos

convencionales, así como los de origen natural de nuevo desarrollo, es motivo de activa investigación en la prevención de la formación de OE, principalmente en alimentos; tal como lo hicieron Miles *et al.* (1998) demostrando por ejemplo, que la inclusión de cobre tribásico en la dieta de aves, logra disminuir el contenido de colesterol en huevos.

Lewis y Mc Gee (1992), describen otro inconveniente que suscita la recomendación de aumentar excesivamente las cantidades de EPA como fuente de AG n-3, y son los posibles efectos inmunológicos adversos; ya que pueden disminuir la actividad de control natural de células citotóxicas (NK: natural killer) en individuos saludables, aunque no ocurre lo mismo con el ALA; las células NK juegan un papel importante en la defensa local contra la infección viral y la inmuno-vigilancia contra las células de tumores.

Por lo tanto, habrá que tener muy en cuenta las indicaciones dietarias proveniente de los comités científicos autorizados a nivel mundial, en cuanto a la ingesta de AG y antioxidantes, para lograr el mejor equilibrio.

Según las recomendaciones del comité de expertos de FAO/OMS (2003) la relación n-6/n-3 debería oscilar entre 5:1 a 10:1.

Butcher y Miles (2000), mencionan que la dieta humana ha cambiado considerablemente durante los últimos 10.000 años. Nuestros ancestros eran cazadores y recolectores y su dieta baja en grasas totales y grasas saturadas, pero relativamente alta en grasas poliinsaturadas.

La relación de los AG n-6/n-3 en la dieta de nuestros ancestros estaba balanceada y cercana a 1:1 y 4:1.

Actualmente, la relación no está equilibrada y se encuentra cerca de 15:1 incluso 20:1.

Una de las razones para este cambio hacia una mayor concentración de n-6 en la dieta es el incremento en el consumo de los aceites vegetales; como resultado, el consumo general del n-3 ha decrecido en la dieta humana. El cambio hacia un mayor consumo de n-6 y menos n-3 tal vez no sería lo más adecuado para la salud, de acuerdo con las más recientes investigaciones médicas y animales; debido a que en los últimos estudios sobre el cáncer han demostrado que los elevados niveles de AGPI n-6 son promotores del cáncer

de mama, de colon y próstata, mientras que los AGPI n-3 han demostrado disminuir el desarrollo de tumoraciones.

En general, las dietas con mayor aporte de AG n-3 han demostrado ser promotoras de una mejor salud en comparación con las dietas que contienen altos niveles de AG n-6. Sin embargo como ya se mencionó, el consumo excesivo de AG n-3 no se libra de problemas; se ha demostrado que el consumo continuo de niveles excesivos de AG n-3 disminuye las funciones inmunológicas. Cuando los niveles de AG n-3 se consumen regularmente, es mejor complementar la dieta con antioxidantes tales como la vitamina E y los beta carotenos.

Los EPA y DHA -sólo presentes en productos de origen animal- son importantes para la buena salud y el desarrollo normal a lo largo de la vida del animal; por ejemplo, el DHA es esencial en las membranas cerebrales, espermatozoides, músculo cardíaco y para los conos y bastones en la retina del ojo. Encontrándose altas concentraciones de DHA en algas, aceite y harina de pescado, de ahí que al pescado se le considera como un "buen alimento para el cerebro".

5.4.2. FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS N-3

Las plantas, tanto terrestres como marinas, son las únicas que producen los AG n-3 y n-6. El n-6 puede convertirse en ácido araquidónico en los tejidos animales. Los peces especialmente los marinos y otras formas de vida marina son ricas fuentes de EPA y DHA. Ellos obtienen sus AGPI n-3 del fitoplancton que vive en las aguas. En el fitoplancton del mar se acumulan los AGPI n-3 como resultado de la fotosíntesis. Las algas en crecimiento activo tienen el 20% de su peso seco de lípidos y los AGPI n-3 constituyen el 50% del peso de los lípidos.

En cuanto al EPA y al DHA, las fuentes más ricas son los aceites de pescado y el llamado pescado azul como es el abadejo, la anchoa, el atún, el arenque, el bacalao, la caballa, la trucha, el salmón, la sardina y sus depósitos de grasa; así como, los moluscos, crustáceos y algas. El contenido de AGPI n-3 variará en función de la especie de pescado, su localización, la estación del año y la disponibilidad de fitoplancton.

A modo orientativo Hepburn *et al.* (1986) describen el contenido medio de AGPI n-3 (g de AGPI n-3 /100g) de algunos pescados y mariscos, como por ejemplo: caballa: 1,8-5,3; arenque: 1,2-3,1; salmón: 1,0-2,0; trucha: 0,5-1,6; atún: 0,5-1,6; gamba: 0,2-0,4; bacalao, halibut: 0,2 aproximadamente.

Las grasas animales y vegetales son componentes usuales en las dietas de aves, ya que además de su función como fuente energética, ciertos AG son esenciales y su deficiencia causa desórdenes metabólicos.

Los depósitos de grasa de las distintas especies de animales usadas para producción de carne tienen características diferentes en su perfil de AG. Mientras los rumiantes tienen mayores niveles de AGS particularmente ácido esteárico, los mamíferos no rumiantes tienen mayor cantidad de ácido oleico adicional, a expensas del ácido esteárico. En los pollos, los AG mirístico (C_{14:0}) y palmítico (C_{16:0}) están en menor proporción que en los mamíferos mientras que el n-9 y n-6 aumentan proporcionalmente. El perfil de los AG constituyentes refleja, en gran parte, la contribución de los AG del alimento.

En cuanto a las fuentes de n-3 de origen animal, podemos decir que la carne, particularmente la de rumiantes, y los productos lácteos también proporcionan ALA. Sin embargo, las técnicas agrícolas modernas han originado un descenso en el contenido de AG n-3 de la carne (especialmente cordero y ternera) debido al uso casi generalizado de concentrados de cereales ricos en AG n-6 para alimentar al ganado (Trautwein, 2001).

Cuando los humanos y otros animales comen pescado y aceite de pescado, obtienen los AGPI n-3 esenciales de origen animal. También el impacto cualitativo y cuantitativo, de la modificación en la composición lipídica en los alimentos de origen animal que consume el hombre (en términos de EPA y DHA); es más importante en animales monogástricos como las aves, conejos y cerdos, que en los poligástricos como vacas y cabras; debido a las razones ya mencionadas (Butcher y Miles, 2000).

Dentro de las fuentes de origen vegetal Ayerza *et al.* (2002) destacan que si bien los productos marinos son ricos en n-3, dentro de las materias primas más utilizadas de origen vegetal hay dos que tienen las más altas concentraciones de ALA n-3, y son la chía y el lino. También hay otros como la semilla de colza, la soja, el germen de trigo y las nueces que contienen entre un 7% y un 13% de ALA.

El lino de la dieta se ha utilizado para desarrollar "huevos diseñados" que son ricos en AG n-3. La cantidad de n-3 de la yema aumenta a medida que aumentan los niveles del lino en la dieta. Pero es muy importante destacar que la semilla de lino presenta cianoglicosidos tóxicos (linamarin) y factores antagónicos de la vitamina B6 (Vetter, 2000); por ello, está restringido su uso en humanos y animales en muchos países como Alemania, Suiza, Bélgica; prohibido como en Francia; y si bien no está prohibido en EEUU no está aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) Vanderveen *et al.* (1986).

No obstante y debido a la disponibilidad del lino (como aceite industrial) y a su precio relativamente bajo, ha habido muchos intentos de utilizarlo en alimentación animal como fuente de AG n-3, aunque sin mucho éxito.

Numerosas publicaciones científicas han mostrado los efectos negativos que los factores anti-nutricionales del lino tienen en el desarrollo de las gallinas ponedoras, pollos, cerdos, animales de laboratorio, etc. Kung y Kummerow, 1950; Homer y Schaible, 1980; Bell, 1989; Lee *et al.* 1991; Batterham *et al.* 1991; Bhatti, 1993; Ajuyah *et al.* 1993; Bell y Keith, 1993; Bond *et al.* 1997; Novak y Scheideler, 1998; Toug *et al.* 1999; Treviño *et al.* 2000. Por lo tanto, y con el fin de usar lino en las dietas avícolas o de otros animales, las semillas deberían detoxificarse previamente. Sin embargo, el proceso más eficiente requiere la utilización de solventes, aunque en ningún caso, quedan completamente detoxificadas (Madhusudhan *et al.* 1986; Mazza y Oomah, 1995).

En una revisión Ayerza (2002), comparó, en el mismo experimento a la chía con otras fuentes de AG n-3; en ella se mostró la ventaja de la chía sobre las dietas que incluían aceite de pescado y lino para la producción de huevos n-3.

El aceite de maíz también se utiliza, ya que es una excelente fuente de n-6, desde hace cuarenta años se sabe que su presencia en la dieta de las ponedoras aumenta el desempeño y tamaño de los huevos. Las lipoproteínas se transportan al ovario y se depositan en la yema del huevo.

Recordemos que la actividad biológica del n-6 y n-3 está relacionada con la participación en funciones enzimáticas, actividad de las células receptoras, fluidez y permeabilidad de la membrana. En las aves, toda la actividad del metabolismo de los lípidos se lleva a cabo en el hígado y los depósitos de grasa son grandes recipientes de almacenamiento, a diferencia de lo que ocurre en los mamíferos, pero su capacidad de sintetizarlos, elongarlos y desaturarlos es insignificante. Sin embargo, las gallinas tienen de alguna manera la capacidad de desviar y retener grandes cantidades de n-3 hacia el huevo, cuando sus dietas contienen altos niveles de este AG n-3. Esto se debe a la hidrogenación que producen las bacterias intestinales de las aves; lo cual hace que la fisiología intestinal, resulte en una relativamente mejor preservación de dietas con n-3 (Bourre y Galea, 2006).

En otros estudios Pinchasov y Nir (1992) alimentaron pollos con dietas con cinco diferentes concentraciones de AGPI, combinando aceite vegetal y sebo vacuno. Los resultados del estudio muestran que los AGPI dietarios fueron más efectivos en reducir los AG monoenoicos que los saturados. Lo que sugiere que la actividad del complejo 9-desaturasa del hígado es afectada por los AGPI dietarios causando una reducción de la síntesis de oleico y de la lipogénesis. A pesar de que el oleico es usualmente el dominante en el tejido adiposo de muchas especies, incluyendo pollos y humanos, el incremento de los AGPI dietarios causan que el oleico sea reemplazado por el n-6.

Cherian *et al.* (1996a) determinaron el efecto de aceites con diferentes grados de saturación, con y sin suplementación de tocoferoles, usando ponedoras Leghorn blancas de 16 meses de edad. Los AG de la dieta alteraron la composición de AG de los tejidos. Cuando los aceites de bacalao y de lino, ricos en AG n-3 fueron incluidos en la dieta hubo una significativa incorporación de EPA y DHA con una concomitante reducción de araquidónico en hígado, huevo y carne blanca. El incremento de los AGPI n-3 de los huevos y tejidos de las aves alimentadas con aceite de lino se debió principalmente al aporte del n-3. También los contenidos de EPA y DHA en estas aves fueron significativamente mayores que en las alimentadas con aceite de girasol y palma. Las aves que recibieron aceite de girasol tuvieron n-6 significativamente más altos en todos los tejidos que las aves alimentadas con aceite de lino, palma y bacalao. La inclusión de tocoferoles en la dieta resultó en un significativo incremento de los EPA y DHA de las pechugas de las aves alimentadas con aceite de bacalao.

El uso de aceites o harinas de pescado en dietas para aves permitiría incrementar el contenido en dichos AG en carne y huevos con el inconveniente de conferirles características organolépticas desagradables. La inclusión de aceites de lino o de colza en reemplazo de aceite de pescado como fuentes alternativas de n-3 no afectaría tanto esas características organolépticas y permitiría una incorporación de n-3 de similar magnitud (López-Ferrer *et al.* 1999).

Otros intentos de modificación del perfil lipídico de pollos y huevos se ha realizado para disminuir el contenido de colesterol, mediante la adición a las dietas de sulfato de cobre (Pesti y Bakalli, 1998); o a través del uso de semillas de Chía (*Salvia hispánica*) con alto contenido de n-3 a las raciones (Ayerza y Coates, 2000).

Finalmente, se presentan otras propiedades beneficiosas de la acción de los n-3 sobre la salud humana, hecho demostrado y avalado científicamente por los siguientes trabajos:

El consumo de AGPI n-3, en particular el EPA y el DHA han mostrado tener efectos benéficos sobre la salud humana (López Ferrer *et al.* 1999). Como ya se mencionara, el consumo de huevos enriquecidos en n-3 permitiría reducir el riesgo de aterosclerosis y ataques cardíacos, al tiempo de producir estímulos en el desarrollo neonatal del cerebro y la retina (Herber Mc Neil y van Elswyk, 1996).

Así como también, intervienen en la prevención de patologías psiquiátricas, dermatológicas y desórdenes reumatológicos (Bourre y Galea, 2006).

Pero las acciones benéficas de los n-3 no se limitan solamente a las antes citadas, sino que también como lo demuestran (Tapia, 2004; Bruinsma y Tarem, 2000) en numerosas investigaciones recientes, las depresiones que se presentan durante el embarazo y después del parto constituyen un importante problema de salud pública; si bien la etiología es desconocida, su aparición se asocia a la depleción de AG n-3. Estado propio del embarazo, pues la madre traspasa sus reservas al feto, para la formación del cerebro de éste. Consecuentemente, la suplementación con AG n-3 ha demostrado ser eficaz para tratar la depresión tanto en embarazadas como en otro tipo de pacientes. Por lo tanto, es aconsejable suplementar a las embarazadas con estos AG para prevenir y tratar las depresiones relacionadas al embarazo. Esta acción tiene la ventaja de ser inocuo durante el embarazo y la lactancia, además de traspasarse al feto durante estos períodos, permitiendo su adecuado desarrollo cerebral. A pesar de que la etiología de la depresión aún es

desconocida, existen determinados factores que se asocian a su aparición y remisión.

Por otro lado, en la población general se ha observado que pacientes afectados por episodios de depresión mayor, poseen disminuidos los niveles de AG n-3 en fosfolípidos plasmáticos, ésteres de colesterol, en membranas de eritrocitos y en tejido adiposo. También se han asociado regiones con bajo consumo de alimentos que aportan estos AG, con elevadas prevalencias de trastornos psiquiátricos como la depresión mayor y la esquizofrenia (Frasure-Smith *et al.* 2004; Mamalakis *et al.* 2004; Peet *et al.* 2004).

Tapia, (2004) también ha demostrado que el consumo de n-3 en la dieta de sujetos sometidos a estrés psicológico (recluidos en recintos carcelarios, hogares de menores e instituciones psiquiátricas), ha logrado disminuir significativamente el comportamiento social, la agresividad y la hostilidad.

De manera concordante, autores como (Nemets *et al.* 2002; Puri *et al.* 2001) demostraron que las intervenciones en pacientes depresivos, consistente en suplementarlos con AG n-3, por cortos períodos, lograron mejoras estadísticamente significativas de los síntomas depresivos, incluso de la ideación suicida en pacientes resistentes al tratamiento.

6- MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y Métodos

En la sección Avicultura de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Pergamino, Buenos Aires, Argentina, se realizó una experiencia dentro del marco del Proyecto INTA 622.

Se utilizaron 480 pollas Shaver Brown alojadas a razón de dos aves por jaula (30cm x 45 cm). La misma se inició a las 24 semanas de vida de las aves y tuvo una duración de 3 períodos de 28 días cada uno. Se compararon diez tratamientos cada uno de ellos con 4 réplicas de 12 aves cada una, distribuidos en bloques aleatorizados para la evaluación de los parámetros zootécnicos. En la tabla 7 figura la distribución de los distintos tratamientos.

Para las determinaciones de calidad externa e interna del huevo, se tomaron muestras de 12 huevos por tratamiento al final de cada período y los resultados se analizaron como un arreglo factorial (tres períodos x 3 tiempos de almacenaje).

Para determinar el contenido de ácidos grasos y colesterol se tomó una muestra de cuatro huevos por tratamiento al final de cada período y los resultados se analizaron como un diseño completamente aleatorizado. Estas determinaciones estuvieron a cargo de la Dra. Pilar García del Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA Castelar (Bs. As) integrante del Proyecto INTA 622.

Tabla 7. Distribución de los tratamientos

1 1	16 2		17 3	32 4		33 5	48 6
2 12	15 11		18 10	31 9		34 8	47 7
3 6	14 5		19 4	30 3		35 2	46 1
4 7	13 8		20 12	29 10		36 11	45 9
5 6	12 4		21 1	28 2		37 3	44 5
6 10	11 11		22 7	27 8		38 9	43 12
7 7	10 2		23 4	26 3		39 1	42 6
8 8	9 10		24 5	25 12		40 11	41 9

-
- El número del centro, corresponde al tratamiento.
 - El número del extremo superior izquierdo corresponde al número de lote.
 - Los tratamientos 11 y 12 no corresponden al presente estudio.
-

El experimento se inició en agosto del 2004 y tuvo una duración de 3 periodos de 28 días cada uno:

- Primer período = desde la semana 25 a 28.
- Segundo período = desde la semana 29 a 32.
- Tercer período = desde la semana 33 a 36.

En esta experiencia se evaluó el máximo nivel de inclusión posible de las distintas fuentes de n-3, mediante una formulación por programación lineal (Tabla Nº 1 del Anexo), considerando el perfil nutricional de cada materia prima, previamente determinado (software N-utrition® 2.0 de DAPP, 2003). Es decir, que estos niveles fueron los máximos que se pudieron incluir por programación lineal, considerando el perfil de los nutrientes de cada materia prima y los requerimientos del ave; debido a que con niveles mayores sería difícil obtener una fórmula que cubra todos los requerimientos.

De este modo surgieron los tratamientos que figuran en la tabla 8.

Tabla 8. Dietas experimentales

TRATAMIENTOS	
1-	Lino semilla (15 %) + AGAO (1,5 %) *
2-	Colza semilla (25 %) + AGAO (1,5 %)
3-	Chía semilla (25 %) + AGAO (1,5 %) **
4-	Chía expeller (25 %) + AGAO (1,5 %)
5-	Lino aceite (6%)
6-	Chía aceite (6%)
7-	Aceite comercial RCR 18% n-3 (6%) ***
8-	Control maíz -soja + AGAO (1,5%)
9-	Control maíz -soja - aceite soja
10-	Cobre tribásico ****

* AGAO aceite de girasol alto oleico, DOW Argentina. SA; ** Chía: Salvia hispánica;
 *** Aceite RCR de GEZA ECKSTEIN S. A. (Contenido n-3 mínimo 18%);
 **** PORFENC SRL.

➤ DIETAS EXPERIMENTALES

- Los tratamientos 1 a 7 corresponden a distintas fuentes de AG n-3.
- A los tratamientos 1, 2, 3 y 4 se les incorporó aceite de girasol alto oleico (AGAO) con el objeto de obtener grasa más estable (menor riesgo de peroxidación).
- Los tratamientos 8 y 9 fueron dietas control a base de maíz y soja. En el tratamiento 8 se utilizó AGAO y en el tratamiento 9 se utilizó aceite de soja.
- El tratamiento 10 fue similar al tratamiento 9 más cobre tribásico, aditivo que actuaría reduciendo el contenido de colesterol en huevos.

Las distintas materias primas utilizadas fueron caracterizadas nutricionalmente a partir del análisis proximal (CAFAB, 1997); contenido de aminoácidos, determinaciones hechas en Degussa, Alemania (según técnica de Mason *et al.* 1980) y contenido de energía metabolizable verdadera (Sibbald, 1976).

Para determinar los aminoácidos digestibles se utilizaron los coeficientes de digestibilidad publicados para semilla de lino en Tablas FEDNA, (2003) como se muestra en la Tabla N° 1 del Anexo.

Las semillas se incluyeron molidas y se agregó grit a las dietas (0,2% arena gruesa).

Las distintas dietas se elaboraron considerando el perfil nutricional determinado a las materias primas utilizadas (Tabla N° 1 del Anexo) y según recomendaciones de la cabaña (Shaver Brown, 2005), considerando el consumo de alimento observado para cada etapa. Se evaluó el efecto del agregado a la dieta de diferentes fuentes de AG n-3 solos o en combinación sobre la respuesta zootécnica; la calidad externa e interna de los huevos y el contenido de ácidos grasos y colesterol de los mismos (Tablas N° 2 y 3 del Anexo).

1) VARIABLES ZOOTÉCNICAS EVALUADAS

- **Energía Metabolizable Verdadera (EMV)**

$$EMV = \frac{CC - (CE - ENDÓGENO)}{ALIMENTO CONSUMIDO (g)}$$

Siendo:

CC: calorías consumidas

CE: calorías excretadas

ENDÓGENO: calorías excretadas de origen endógeno

Para ello, se utilizaron aves adultas, 4 réplicas por dieta. Luego de 24 hs de ayuno se suministraron 40 g de alimento / ave y se recolectaron las excretas durante 48 hs. Para estimar las pérdidas endógenas se recolectaron las excretas de 4 aves que no recibieron ningún alimento, durante 48 hs. Estas muestras se secaron en estufa durante 48 hs a 60°C.

Finalmente se determinó energía bruta en alimento y excretas (calorímetro Parr, Laboratorio Nutrición Animal INTA Pergamino).

- **Ave-día**, sumatoria del número de aves presentes cada día correspondiente al período considerado.
- **Postura** (% / ave / día), calculándose con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de postura} = \frac{\text{nº de huevos producidos en el período}}{\text{ave-día}} \times 100$$

- **Consumo de alimento** (promedio de cada período de 28 días), se obtiene a partir de:

$$\text{Consumo de ave-día} = \frac{\text{alimento colocado} - \text{alimento sobrante}}{\text{ave-día}}$$

- **Peso de huevo** (g) promedio de una muestra (producción de 3 - 4 días) al finalizar cada período.

- **Masa de huevo /ave /día**, calculándose:

$$\text{Masa (g)} = \frac{\text{Postura (\%)} \times \text{Peso huevo (g)}}{100}$$

- **Conversión Alimenticia** (C. A) por docena de huevos y/o por Kg de huevo, calculándose:

$$\text{C. A por docena de huevo} = \frac{\text{consumo de ave-día} \times \text{ave-día}}{\text{docenas huevos producidos}}$$

$$\text{C.A por Kg de huevo} = = \frac{\text{consumo de ave-día} \times \text{ave-día}}{\text{Nº huevos} \times \text{Peso huevos}}$$

- **Mortalidad**, se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\text{total aves muertas}}{\text{total aves ingresadas}} \times 100$$

- **Peso vivo**, de todas las aves a las 36 semanas.

2) CALIDAD EXTERNA E INTERNA DEL HUEVO

A) Calidad interna del huevo (Unidades Haugh)

Se utiliza para medir el envejecimiento del huevo, se usaron 12 huevos por cada tratamiento a los días 1, 7 y 14 de almacenaje, a una temperatura de 10 ° C y 50% de humedad en cada período.

Al determinar la calidad de la albúmina se sabe si se trata de huevo fresco o envejecido. Para esto numéricamente se tienen las unidades Haugh (Hu), que son estándares internacionales. Es un método preciso, seguro, objetivo y universal. Las Hu son una forma de expresión logarítmica ideada por este investigador para expresar la calidad del huevo en función de su peso y de la altura de la albúmina.

Se pesó cada huevo de la muestra y se lo cascó para colocar su contenido en una superficie plana y lisa, en este caso un espejo, después con el calibre apoyado en la parte más elevada de la albúmina (el límite entre la yema y la albúmina), se registró el número observado en la altura de la clara. Se utilizó un calibre digital Digimess ® Metrología Dimensional.

De esta manera se procedió con todos los huevos de cada tratamiento en cada período.

Con estos datos obtenidos, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Unidades Haugh (Hu)} = \frac{100 \log \left(\frac{H \sqrt{G} (30 W^{-0,37} - 100)}{100} \right) + 1,9}{100}$$

Donde:

H = altura de la albúmina, en mm.

G = constante de Gravitación: 32, 2.

W = peso del huevo, en g.

B) Calidad externa del huevo (mg/cm^2)

Se tomaron muestras de 12 huevos por tratamiento al inicio y al final de cada período. Para determinar la superficie del huevo se utilizó la fórmula propuesta por Mueller y Scout, (1940).

Calidad externa del huevo= peso x unidad de superficie o bien,

$$S = k \cdot W^{2/3} \quad \text{donde:}$$

S= Superficie (cm^2)

W= Peso huevo (g)

K= Constante (4.67)

Para determinar el peso de la cáscara se procede a quebrar cuidadosamente el huevo, eliminar restos de albúmina con agua, secar en estufa a 60°C durante 24 h, dejar equilibrar a temperatura ambiente y pesar.

El cociente entre peso (mg) / superficie (cm^2) permite expresar la calidad de cáscara en términos de mg / cm^2

3) DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Perfil de ácidos grasos y colesterol

Cabe aclarar que, al no encontrarse diferencias importantes entre los períodos 1 y 3 como se verá en resultados, y considerando limitaciones en la capacidad analítica del ITA Castelar, se decidió no realizar las determinaciones de AG correspondiente al segundo período.

Se tomó una muestra de cuatro huevos por tratamiento al final de cada período. Los análisis químicos de los huevos estuvieron a cargo de la Dra. Pilar García del Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA Castelar (Bs. As).

El contenido de colesterol y ácidos grasos se determinó mediante cromatografía gaseosa, previa extracción de los lípidos por la técnica de Folch

et al. (1957). Se usó un cromatógrafo CHROMPACK Model CP 9000S Gas Chromatograph.

Para ello, se cascaron los huevos separando la yema de la albúmina (clara). La yema se hizo rolar en un papel secante (tissue) para quitarle todo los restos de clara y chalazas que pudieran haber quedado. Luego se homogeneizó y se tomó 1 gramo de yema que se colocó en un tubo y se llevó a 20 ml con una solución de cloroformo/metanol (relación 2:1) y se dejó extrayendo hasta el momento de ser analizado (mínimo 24h).

Se descartó la fase superior; la inferior fue saponificada con 2 ml de hidróxido de potasio al 10% p/v en metanol:

En la fracción insaponificable (superior) quedó el **colesterol**, cuya concentración fue determinada por método enzimático - colorimétrico (determinación de Biochemical System).

La fase inferior (fracción saponificable) fue hidrolizada con ácido clorhídrico concentrado, liberando de esta manera los **ácidos grasos**, los cuales fueron transmetilados con una solución al 20% de trifluoruro de boro metanol, y analizados por cromatografía gaseosa.

Los picos fueron identificados de acuerdo al tiempo de retención y comparados con patrones, y las concentraciones fueron determinadas como porcentaje del área bajo la curva, expresándose los AG como porcentaje de lípidos totales.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron sometidos al análisis de la variancia y las diferencias entre medias se compararon mediante el Test de Duncan. (Mstat, versión 4.00/EM).

7- RESULTADOS

RESULTADOS

7.1- RESULTADOS ZOOTÉCNICOS

A continuación se presentan los valores determinados de EMV de cada dieta y los resultados promedios de la postura; el peso del huevo; masa de huevo; consumo de alimento; conversión alimenticia por docena y por kilo de huevo, para cada período por separado y como promedio de los tres períodos que comprendían el estudio. Cabe aclarar que no se registró mortalidad en ningún tratamiento a lo largo de todo el trabajo.

- *Energía Metabolizable Verdadera*

Las dietas fueron formuladas para un contenido de EMV de 3100 kcl/kg.

No se observaron diferencias significativas en el contenido de EMV respecto del control T9; exceptuando T1, T3 y T4 que tuvieron mayor contenido ($p<0,05$) de EMV (Tabla N° 9).

- *Producción de huevos o postura (%)*

Al finalizar el período uno (Tabla N° 10), no se observaron diferencias entre ninguno de los tratamientos evaluados respecto del control T9; siendo la postura de huevos de gallinas alimentadas con la dieta T5, significativamente mayor ($p<0,05$) con respecto a la encontrada en las gallinas alimentadas con el T3.

Al finalizar el período dos (Tabla N° 11) tampoco hubo diferencias respecto del control T9. La postura de las gallinas alimentadas con las dietas T6, T7 y T8, fue significativamente ($p<0,05$) superior con respecto a la del T3.

En el tercer período se dio una situación similar a los anteriores (Tabla N° 12), excepto con el T1 que tuvo una postura ($p<0,05$) menor con respecto a los T7, T8 y T9.

Al considerar el promedio de los tres períodos (Tabla N° 13), no se observaron diferencias en postura, entre los tratamientos evaluados.

- *Peso del huevo (g)*

En el período uno (Tabla N° 10), en el peso promedio de los huevos no se observaron diferencias con respecto al control T9; exceptuando los huevos de gallinas alimentadas con las dietas T1 y T2, cuyo peso fue significativamente menor ($p<0,05$). El T1 también presentó valores inferiores ($p<0,05$), con respecto a los T3, T5, T6, T7 y T8.

Durante el período 2, no hubo diferencias respecto del control T9 (Tabla N° 11); no obstante, el peso promedio de los huevos del T8 fue mayor ($p<0,05$) con respecto a los tratamientos T1 y T2.

En el período tres (Tabla N° 12) no hubo diferencias respecto del control T9; exceptuando el T1, que alcanzó un peso significativamente menor ($p<0,05$). El peso promedio de los huevos de gallinas alimentadas con el T3, fue numéricamente mayor que el de los otros tratamientos; pero esta diferencia fue solamente significativa ($p<0,05$) con respecto a los T1 y T7.

Al considerar el promedio de los tres períodos (Tabla N° 13), solamente los T1 y T2 tuvieron pesos significativamente menores ($p<0,05$) que el control T9.

- *Masa de huevo*

En el primer período (Tablas N° 10), no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando el T1, cuya masa de huevo fue significativamente menor ($p<0,05$) con respecto al control T9, y también lo fue con respecto a los T5, T6 y T8.

En el segundo período (Tabla N° 11), no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T1 y T4, cuya masa de huevo fue significativamente ($p<0,05$) menor, con respecto al control y a los T6 y T8.

Mientras que en el tercer período (Tabla N° 12), no se observaron diferencias significativas con respecto al control T9; exceptuando los T1, T2 y T4 cuya masa de huevo fue menor ($p<0,05$). Además la masa del T1, fue ($p<0,05$) menor que la de T3, T5, T6, T7, T8 y T10; y la masa de T2 y T4, fue menor que la del T8.

Al considerar el promedio de los tres períodos (Tabla N° 13), solamente la masa de huevo de los T1, T2 y T4 fue menor ($p<0,05$) con respecto al control T9. La masa del T1 también fue menor ($p<0,05$) respecto de los T5, T6 y T8; y la masa de los T2 y T4 fue menor ($p<0,05$) que la del T8.

- Consumo de alimento (g)

En el período 1 (Tabla N° 10), no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T1 y T2; siendo que el T1 tuvo un consumo significativamente más bajo ($p<0,05$) que el T9 y los demás tratamientos, excepto el T4. Mientras que, el T2 tuvo un consumo significativamente mayor ($p<0,05$) que el control T9 y el resto de los tratamientos.

En el período dos (Tabla N° 11), se observó la misma respuesta indicada en el período anterior, al comparar los distintos tratamientos con el control T9. Mientras que el consumo del T2 fue significativamente más alto ($p<0,05$) con respecto a las dietas T4, T5, T7, T8 y T10.

En el tercer período (Tabla N° 12), no se observaron diferencias en consumo entre los tratamientos respecto del control T9; mientras que el T2 mostró un consumo significativamente mayor ($p<0,05$) que el de los T6, T7 y T8.

El consumo promedio de alimentos de los tres períodos (Tabla N° 13) no presenta diferencias entre tratamientos respecto del control T9; excepción hecha por el T2, que mostró un mayor consumo de alimentos ($p<0,05$), comparado con las aves alimentadas con las otras dietas, excepto con el T3.

- Conversión alimenticia por docena de huevos

Durante el período 1 (Tabla N° 10), no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando el T2 que tuvo una diferencia significativamente mayor ($p<0,05$) con respecto a los demás tratamientos, salvo con el T3.

Durante el período 2 (Tabla N° 11), no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T1, T2 y T3 que presentaron una diferencia significativamente mayor ($p<0,05$). El T2 también fue ($p<0,05$) mayor

con respecto a los otros tratamientos; excepto con los T1 y T3. Mientras que, el T3 además, fue ($p<0,05$) mayor con respecto al T8.

En el tercer período (Tabla N° 12) no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T2 y T3 que tuvieron mayores conversiones ($p<0,05$) alimenticias. El T2 también presentó una mayor conversión que los restantes tratamientos exceptuando T1, T3 y T4. A su vez, T3 tuvo una mayor conversión que los restantes tratamientos, exceptuando T1, T2, T4 y T5.

Como promedio de los tres períodos (Tabla N° 13) no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T2 y T3 que tuvieron una mayor ($p<0,05$) conversión alimenticia. El T2 presentó la mayor ($p<0,05$) conversión con respecto a los demás tratamientos, excepto con el T3. Mientras que la conversión del T3, fue ($p<0,05$) mayor que la de los T4, T7 y T8.

- Conversión alimenticia por kg de huevo

Durante el período 1 (Tabla N° 10) no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando el T2 que tuvo la mayor conversión ($p<0,05$), esta diferencia también se dio con los restantes tratamientos.

En el período 2 (Tabla N° 11) no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T1, T2 y T3 que presentaron la mayor conversión ($p<0,05$) alimenticia. A su vez, los T1 y T2 tuvieron una conversión mayor ($p<0,05$) que los restantes tratamientos, excepto el T3. La conversión de T3 también fue mayor ($p<0,05$) que los T8 y T10.

En el tercer período (Tabla N° 12) no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T1, T2 y T3 que tuvieron conversiones ($p<0,05$) más altas. El T2 también tuvo la mayor ($p<0,05$) conversión con respecto a los restantes tratamientos, exceptuando los T1, T3 y T4. Mientras que el T3, tuvo mayor ($p<0,05$) conversión que los T7 y T8.

Como promedio de los tres períodos (Tabla N° 13) no se observaron diferencias respecto del control T9; exceptuando los T1, T2 y T3 que tuvieron una mayor conversión ($p<0,05$) alimenticia. Siendo que el T2, presentó una mayor conversión ($p<0,05$) con respecto a todas las dietas. Mientras que los T1 y T3 presentaron una mayor conversión ($p<0,05$) respecto del T8.

- *Peso vivo del ave*

Al finalizar la prueba, no se observaron diferencias significativas en peso vivo, respecto del control T9 (Tabla N° 13); exceptuando los T1, T3 y T4, que mostraron pesos promedios inferiores ($p < 0,05$); siendo también los T1, T3 y T4, más bajos ($p < 0,05$) que los T8 y T10.

Tabla Nº 9. Respuesta de la EMV en los tres períodos

TRATAMIENTOS	EMV DE LA DIETA cal/g
T 1- semilla de lino	3,104 a \pm 48,12
T 2- semilla de colza	2,980 b \pm 29,26
T 3- semilla de chía	3,100 a \pm 16,29
T4- expeller de chía	3,093 a \pm 117,89
T 5- aceite de lino	2,967 b \pm 35,30
T6- aceite de chía	3,007ab \pm 51,92
T7- aceite RCR	2,956 b \pm 27,97
T8- control AGAO	3,027ab \pm 64,95
T9- control a soja	2,994 b \pm 76,55
T10- cobre tribásico	3,040 ab \pm 71,13
Medias dentro de una misma columna con distinta letra, difieren significativamente ($p < 0,05$)	

TABLA Nº 10. Respuesta zootécnica durante el período 1

Tratamientos	Postura %	Peso huevo g	Masa huevo g/huevo/día	Consumo g	Conversión por docena de huevo	Conversión por Kg de huevo
T 1- semilla de lino	98,13 ab ± 0,85	63,33 c ± 1,43	62,15 b ± 1,92	120,25 d ± 5,46	1,470 d ± 0,06	1,934 b ± 0,03
T 2- semilla de colza	98,80 ab ± 0,73	64,18 bc ± 0,98	63,45 ab ± 1,23	137,75 a ± 3,03	1,669 a ± 0,03	2,167 a ± 0,05
T 3- semilla de chía	97,53 b ± 1,22	65,93 ab ± 1,22	64,33 ab ± 0,55	130,75 b ± 2,79	1,609 ab ± 0,03	2,034 b ± 0,06
T4- expeller de chía	98,73 ab ± 0,74	64,73 abc ± 1,31	63,88 ab ± 0,92	123,00 cd ± 3,98	1,495 cd ± 0,06	1,926 b ± 0,07
T 5- aceite de lino	99,55 a ± 0,17	65,73 ab ± 1,50	65,45 a ± 1,46	131,00 b ± 2,17	1,577 bc ± 0,03	1,999 b ± 0,03
T6- aceite de chía	99,18 ab ± 0,45	65,68 ab ± 0,65	65,15 a ± 0,43	129,25 bc ± 2,89	1,562 bc ± 0,04	1,981b ± 0,04
T7- aceite RCR	97,98 ab ± 1,80	65,23 ab ± 1,20	63,93 ab ± 1,98	128,75 bc ± 3,58	1,576 bc ± 0,06	2,014 b ± 0,10
T8- control AGAO	98,43 ab ± 2,34	65,78 ab ± 0,67	64,75 a ± 2,08	127,25 bc ± 3,40	1,550 bcd ± 0,07	1,965 b ± 0,11
T9- control a soja	98,65 ab ± 1,55	66,23 a ± 0,67	65,33 a ± 1,08	127,50 bc ± 3,24	1,548 bcd ± 0,05	1,948 b ± 0,05
T10- cobre tribásico	97,90 ab ± 0,42	64,68 abc ± 1,13	63,33 ab ± 1,32	127,75 bc ± 7,10	1,566 bc ± 0,08	2,017 b ± 0,08

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente ($p < 0,05$)

TABLA Nº 11. Respuesta zootécnica durante el período 2

Tratamientos	Postura %	Peso huevo g	Masa huevo g/huevo/día	Consumo g	Conversión por docena de huevo	Conversión por Kg de huevo
T 1- semilla de lino	97,84 ab ± 1,15	64,10 b ± 1,54	62,70 c ± 2,23	133,13 ab ± 7,57	1,632 abc ± 0,07	2,122 a ± 0,05
T 2- semilla de colza	98,29 ab ± 0,66	64,10 b ± 0,50	63,00 bc ± 0,83	136,98 a ± 3,59	1,673 a ± 0,04	2,174 a ± 0,05
T 3- semilla de chía	96,43 b ± 1,88	65,28 ab ± 1,04	62,93 bc ± 0,70	132,10 abc ± 2,16	1,645 ab ± 0,04	2,100 ab ± 0,03
T4- expeller de chía	96,95 ab ± 1,34	64,43 ab ± 1,75	62,43 c ± 1,19	126,08 bc ± 5,17	1,561 bcd ± 0,08	2,020 bc ± 0,10
T 5- aceite de lino	98,29 ab ± 1,30	64,80 ab ± 1,31	63,68 abc ± 1,95	128,25 bc ± 4,55	1,566 bcd ± 0,05	2,016 bc ± 0,09
T6- aceite de chía	98,88 a ± 1,27	66,00 ab ± 0,76	65,25 a ± 0,61	130,15 abc ± 2,72	1,579 bcd ± 0,03	1,994 bc ± 0,02
T7- aceite RCR	98,88 a ± 0,37	64,58 ab ± 1,31	63,85 abc ± 1,50	127,88 bc ± 3,38	1,552 bcd ± 0,04	2,003 bc ± 0,03
T8- control AGAO	98,88 a ± 1,64	66,10 a ± 0,40	65,38 a ± 1,02	126,60 bc ± 1,91	1,537 cd ± 0,05	1,938 c ± 0,06
T9- control a soja	98,51 ab ± 0,54	65,98 ab ± 1,77	65,00 ab ± 1,68	125,20 c ± 5,68	1,525 d ± 0,07	1,926 c ± 0,06
T10- cobre tribásico	97,99 ab ± 1,65	65,98 ab ± 0,71	64,65 abc ± 1,26	127,58 bc ± 5,60	1,563 bcd ± 0,07	1,974 c ± 0,09
Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05)						

TABLA Nº 12. Respuesta zootécnica durante el período 3

Tratamientos	Postura %	Peso huevo g	Masa huevo g/huevo/día	Consumo g	Conversión por docena de huevo	Conversión por Kg de huevo
T 1- semilla de lino	95,30 b ± 3,61	64,50 c ± 0,93	61,45 c ± 2,85	128,25 ab ± 7,00	1,616 abc ± 0,06	2,088 abc ± 0,05
T 2- semilla de colza	96,73 ab ± 2,50	65,33 abc ± 1,00	63,20 bc ± 1,47	137,00 a ± 4,70	1,703 a ± 0,02	2,174 a ± 0,06
T 3- semilla de chía	96,55 ab ± 1,62	66,88 a ± 1,38	64,60 ab ± 1,44	135,50 ab ± 3,18	1,685 ab ± 0,05	2,099 ab ± 0,07
T4- expeller de chía	96,03 ab ± 2,18	65,35 abc ± 1,08	62,78 bc ± 0,45	129,25 ab ± 9,94	1,616 abc ± 0,13	2,060 abcd ± 0,16
T 5- aceite de lino	97,68 ab ± 1,23	65,28 abc ± 1,85	63,78 ab ± 2,07	129,00 ab ± 1,99	1,587 bc ± 0,03	2,027 bcd ± 0,04
T6- aceite de chía	97,15 ab ± 2,07	65,65 abc ± 1,39	63,78 ab ± 0,74	126,25 b ± 3,84	1,561 c ± 0,03	1,982 bcd ± 0,04
T7- aceite RCR	98,58 a ± 0,51	64,88 bc ± 0,79	63,95 ab ± 0,76	126,25 b ± 3,93	1,534 c ± 0,05	1,970 cd ± 0,04
T8- control AGAO	98,35 a ± 0,71	66,55 ab ± 0,69	65,48 a ± 0,92	126,75 b ± 5,87	1,547 c ± 0,07	1,937 d ± 0,06
T9- control soja	98,65 a ± 0,71	66,43 ab ± 0,54	65,53 a ± 0,76	127,75 ab ± 1,98	1,552 c ± 0,01	1,947 d ± 0,02
T10- cobre tribásico	97,30 ab ± 1,60	65,95 abc ± 0,34	64,18 ab ± 0,98	129,00 ab ± 5,75	1,591 bc ± 0,08	2,011 bcd ± 0,10

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05)

TABLA Nº 13. Respuesta zootécnica en los tres períodos

Tratamientos	Postura %	Peso huevo g	Masa huevo g/huevo/día	Consumo g	Conversión por docena	Conversión por Kg	Peso vivo g
T 1- semilla de lino	97,08 a ± 1,69	63,98 c ± 1,29	62,00 d ± 2,15	127,25 b ± 6,60	1,572 bc ± 0,06	2,048 b ± 0,04	1,962 c ± 70,53
T 2- semilla de colza	99,70 a ± 1,19	64,53 bc ± 0,74	63,25 cd ± 1,11	137,25 a ± 3,70	1,682 a ± 0,03	2,171 a ± 0,05	2,033 abc ± 78,28
T 3- semilla de chíá	96,83 a ± 1,54	66,03 ab ± 0,99	64,00 abcd ± 0,74	133,00 ab ± 1,87	1,646 ab ± 0,03	2,077 b ± 0,03	1,945 c ± 75,44
T4- expeller de chíá	97,23 a ± 1,39	64,83 abc ± 1,29	63,00 cd ± 0,55	126,00 b ± 6,17	1,557 c ± 0,09	2,001 bc ± 0,11	1,966 bc ± 78,77
T 5- aceite de lino	98,50 a ± 0,62	65,28 abc ± 1,48	64,25 abc ± 1,67	129,25 b ± 1,73	1,577 bc ± 0,02	2,014 bc ± 0,03	2,073 ab ± 40,05
T6- aceite de chíá	98,40 a ± 1,14	65,78 ab ± 0,62	64,75 abc ± 0,57	128,50 b ± 3,12	1,567 bc ± 0,03	1,985 bc ± 0,03	2,046 abc ± 41,69
T7- aceite RCR	98,48 a ± 0,60	64,90 abc ± 1,07	64,00 abcd ±1,37	127,50 b ± 2,74	1,554 c ± 0,03	1,995 bc ± 0,03	2,041 abc ± 60,05
T8- control AGAO	98,55 a ± 1,25	66,15 a ± 0,24	65,25 ab ± 0,80	127,00 b ± 3,54	1,545 c ± 0,06	1,946 c ± 0,06	2,098 a ± 57,06
T9- control a soja	98,60 a ± 0,27	66,23 a ± 0,95	65,50 a ± 0,90	126,75 b ± 3,27	1,542 c ± 0,04	1,941 c ± 0,04	2,109 a ± 80,04
T10- cobre tribásico	97,73 a ± 1,08	65,53 abc ± 0,53	64,00 abcd ± 0,90	128,00 b ± 6,11	1,573 bc ± 0,08	2,000 bc ± 0,08	2,104 a ± 53,92

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05).

7.2. RESULTADOS DE LA CALIDAD DEL HUEVO

7.2.1- CALIDAD EXTERNA DEL HUEVO

A continuación se presentan los resultados promedio de la calidad de cáscara del huevo. El Anova efectuado no mostró interacciones significativas por lo que los resultados se presentan agrupados considerando edad de las aves, tiempo de almacenamiento y tratamientos.

Se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) del espesor de cáscara expresado como mg/cm^2 en función de la edad de las aves, independiente de los tratamientos (Tabla N° 14).

Tabla 14. Calidad de la cáscara del huevo según la edad de las aves

Período Evaluación	Promedio C.C. mg/cm^2
28 semanas	82,96 a
32 semanas	81,97 b
36 semanas	81,68 b

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente ($p < 0,05$)

En cuanto al tiempo de almacenamiento de los huevos, no afectó este parámetro (Tabla N° 15).

Tabla 15. Calidad de la cáscara del huevo según los días de almacenamiento

Período Evaluación	Promedio C.C. mg/cm²
Día 1	82,08 a ± 5,30
Día 7	81,90 a ± 5,82
Día 14	82,52 a ± 4,48

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05)

Por otra parte, se observó una disminución significativa (p<0,05) de la calidad promedio de cáscara para los tratamientos T2, T3 y T4, con respecto al control T9 (Tabla N° 16).

Tabla 16. Calidad de la cáscara del huevo según los diferentes tratamientos

Tratamiento	Promedio C.C. mg/cm²
1- Semilla de Lino	83,89 a \pm 5,7
2- Semilla colza	80,66 bc \pm 5,9
3- Semilla Chía	79,32 c \pm 7,3
4- Expeller Chía	80,88 bc \pm 6,9
5- Aceite Lino	82,39 ab \pm 6,0
6- Aceite Chía	82,14 ab \pm 6,8
7- Aceite RCR	83,10 a \pm 5,3
8- Control AGAO	82,90 a \pm 5,8
9- Control soja	83,50 a \pm 6,0
10- Cobre Tribásico	82,88 a \pm 5,6
Interacción	Ns

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05); Ns: no significativa.

7.2.2- CALIDAD INTERNA DEL HUEVO

En el Análisis de la Variancia se observó la presencia de interacción entre períodos y días de almacenamiento por lo que se particionan los resultados considerando cada período (Tabla N° 17). De acuerdo a lo esperado, la calidad interna promedio del huevo disminuyó significativamente ($p < 0,05$) en función del tiempo de almacenamiento. No se observaron diferencias debidas a tratamientos.

Tabla 17. Calidad interna del huevo, medida según tiempo de almacenaje y período evaluado en Unidades Haugh.

Tiempo de Almacenaje	Período 1	Período 2	Período 3
Día 1	92,66 a ± 11,09	91,72 a ± 6,65	83,05 a ± 7,36
Día 7	80,80 b ± 8,35	72,85 b ± 8,79	69,47 b ± 8,46
Día 14	66,30 c ± 8,50	69,96 c ± 7,99	61,04 c ± 8,54
Promedio	79,92	78,17	71,19
Tratamientos	Período 1	Período 2	Período 3
T 1- semilla lino	81,18 a ± 12,8	80,26 a ± 10,1	72,19 a ± 14,0
T2- semilla colza	80,34 a ± 14,7	77,40 a ± 12,6	70,51 a ± 13,6
T3- semilla chía	79,17 a ± 11,8	77,66 a ± 13,8	70,13 a ± 12,3
T4- expeller chía	78,21 a ± 13,0	79,50 a ± 13,0	70,77 a ± 10,0
T5- aceite de lino	79,63 a ± 11,9	77,19 a ± 11,7	69,95 a ± 11,1
T6- aceite de chía	79,18 a ± 15,5	78,03 a ± 14,2	69,64 a ± 11,3
T7- aceite RCR	79,99 a ± 14,0	78,43 a ± 14,6	73,01 a ± 14,2
T8- control AGAO	81,46 a ± 15,2	77,65 a ± 11,2	71,46 a ± 12,1
T9- control a soja	79,13 a ± 13,2	76,92 a ± 11,7	71,08 a ± 12,0
T10- cobre tribásico	80,91 a ± 13,1	78,68 a ± 11,9	73,14 a ± 11,6

Medias dentro de una misma columna y grupo de datos con distinta letra difieren significativamente ($P < 0,05\%$).
Hu: Unidades Haugh.

7.3. RESULTADOS DE LAS DETERMINACIONES ANALÍTICAS

7.3.1- PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN HUEVO

En las Tablas N° 18 y 19, se observan los resultados de cada uno de los ácidos grasos evaluados (palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico, araquidónico, y docosahexaenoico) respectivamente, determinados en las yemas de huevos de las gallinas ponedoras en estudio, durante los períodos 1 y 3 como se aclarara oportunamente en materiales y métodos.

- En el primer período, el contenido del AGS palmítico de los T7, T8 y T10 fue similar al control T9. Por el contrario, en las yemas de huevos de gallinas alimentadas con dietas T1, T2, T3, T4, T5 y T6, fue significativamente ($p<0,05$) más bajo (Tabla N° 18).

En el tercer período, no se observaron diferencias significativas en los tratamientos T8 y T10 con respecto al control T9; mientras que el T3, presentó un contenido de palmítico más bajo ($p<0,05$) con respecto al control T9 y a los demás tratamientos, excepto el T1 y T2. En tanto que el T7, presentó el contenido de palmítico más alto ($p<0,05$), con respecto al control T9 y demás dietas (Tabla N° 19).

- En el primer período, al evaluar el contenido del AGS palmitoleico, no se encontraron diferencias entre los tratamientos con respecto al control T9; excepto en los T2 y T7. El T2 presentó el contenido más bajo ($p<0,05$) en yemas de huevos (Tabla N° 18), con respecto al control T9 y a las otras dietas. El T7, presentó el contenido más alto ($p<0,05$) con respecto al control T9, y demás tratamientos.

En el tercer período (Tabla N° 19), no hubo diferencias entre los tratamientos con respecto al control T9; excepto en los T7 y T8. El T7 volvió a presentar el contenido más alto ($p<0,05$) con respecto al control T9, y demás tratamientos. Mientras que el T8, también tuvo un contenido

más alto ($p<0,05$) con respecto al control T9 y demás dietas, excepto con T7.

- En el primer período (Tabla N° 18), no se observaron diferencias en el contenido del AGS esteárico respecto del control T9; exceptuando los T2 y T7 que presentaron niveles más bajos ($p<0,05$).

En el tercer período, no se observaron diferencias en el contenido de esteárico respecto del control T9; exceptuando los T2, T5, T6 y T7. Siendo que el T2 tuvo el valor más bajo ($p<0,05$) con respecto al control T9 y demás tratamientos, seguido de T7. Los T5 y T6 presentaron los valores más altos ($p<0,05$), con respecto al control T9 y demás dietas (Tabla N° 19).

- En período 1, al evaluar el contenido de AGMI oleico, los T3, T4 y T10, no presentaron diferencias con respecto al control T9 (Tabla N° 18). Mientras que, el T2 tuvo el mayor contenido ($p<0,05$) con respecto al control T9 y demás tratamientos. También los T1, T7 y T8 presentaron valores más altos de oleico ($p<0,05$) con respecto al control T9 y las otras dietas, excepto T5. El menor contenido ($p<0,05$) lo presentó T6.

En el período 3 (Tabla N° 19), el contenido de oleico de T3, T4, T5, T6 y T10 no fue diferente del control T9. El mayor ($p<0,05$) contenido nuevamente se encontró en el T2. Mientras que en los T1, T7 y T8 también presentaron valores superiores ($p<0,05$) comparados con el control T9 y los otros tratamientos, excepto el T2.

El porcentaje de AG oleico, se correlacionó negativamente con el porcentaje de AG n-6 con valores de $R= -0,69$ ($p<0,001$) en el primer período; y $R= -0,63$ ($p<0,001$) en el tercer período. Mientras que, con respecto al AG ALA mostró valores de $R= -0,62$ ($p<0,001$) para el primer período; y $R= -0,61$ ($p<0,001$) en el tercer período.

- En primer período el contenido del AGPI linoleico fue menor ($p<0,05$) en todos los tratamientos, excepto en el T10 con respecto al control T9 (Tabla N° 18). Dentro de los tratamientos que incluyen fuentes

de n-3, los T1, T2 y T7 presentaron los valores más bajos ($p<0,05$) de linoleico. Mientras que el contenido significativamente más alto ($p<0,05$) fue encontrado en los huevos de las gallinas alimentadas con las dietas T4, T6 y T8, comparado con las dietas T1, T2, T3, T5 y T7.

En el tercer período, el contenido del AG linoleico también fue menor ($p<0,05$) en todos los tratamientos, excepto en el T10 con respecto al control T9 (Tabla N° 19). El contenido significativamente más alto ($p<0,05$) fue encontrado en los T3, T4, T5, T6 y T8 comparado con las dietas T1, T2 y T7. Mientras que los T1, T2 y T7 presentaron los contenidos más bajos ($p<0,05$) con respecto al control y demás dietas.

- En el primer período, el contenido del AG linolénico, en los T2, T8 y T10 fue similar al control T9, mientras que el de los restantes tratamientos fue ($p<0,05$) más alto (Tabla N° 18). Los T3 y T6 presentaron los niveles más altos de linolénico, seguidos de T1, T4 y T5; situándose T7 en un tercer grupo.

En el período tres (Tabla N° 19), se observó un comportamiento similar al descrito para el período 1 siendo los tratamientos con mayor ($p<0,05$) contenido de linolénico y ordenados en forma decreciente los T3, T4, T6, T1, T5 y T7.

- En período 1, el contenido del AGPI n-6 araquidónico de T2, T8 y T10 (Tabla N° 18) fue similar al del control T9; mientras que en los restantes tratamientos fue menor ($p<0,05$).

En el período 3, se observó una tendencia similar exceptuando que T8 y T10 tuvieron un mayor contenido ($p<0,05$) que el control T9 (Tabla N° 19), y que los demás tratamientos, excepto el T2.

El AG araquidónico, estuvo negativamente correlacionado con el porcentaje de ALA, con valores de $R = -0,92$ ($p<0,001$) en el primer período; y $R = -0,73$ ($p<0,001$) en el tercer período.

- En el primer período, el contenido de DHA de T2, T3, T6, T8 y T10 no fue diferente respecto del control T9. Los restantes tratamientos mostraron un ($p<0,05$) incremento en este AG; siendo T1 el que alcanzó el nivel más alto, excepto cuando se lo compara con T5 y T7 (Tabla N° 18).

En el tercer período (Tabla N° 19), el contenido de DHA de T2, T6, T8 y T10 no fue diferente respecto del control T9. Los restantes tratamientos mostraron un aumento ($p<0,05$) en este AG. Nuevamente el T1 alcanzó el contenido más alto.

Tabla 18. Composición de ácidos grasos en yemas de huevos producidos por gallinas, alimentadas con distintas fuentes de lípidos durante el primer período.

Tratamientos	16:0 palmítico	16:1 n-7 palmitoleico	18:0 esteárico	18:1 n-9 oleico	18:2 n-6 linoleico	18:3 n-3 linolenico	20:4 n-6 araquidónico	22:6 n-3 DHA ¹
T1- semilla lino	20,51 b ± 0,74	2,85 bc ± 0,36	8,20 ab ± 0,32	42,39 b ± 1,22	14,91cd ± 1,10	6,07 b ± 1,25	1,15 bc ± 0,13	1,61 a ± 0,66
T2- semilla colza	19,90 b ± 0,33	1,61 e ± 0,20	6,44 c ± 0,13	49,31 a ± 1,54	15,59cd ± 0,75	1,49 d ± 0,11	1,73 a ± 0,04	1,17 cd ± 0,16
T3- semilla chía	19,74 b ± 1,02	2,66 bcd ± 0,03	8,97 a ± 0,32	37,71 cd ± 0,36	16,48 c ± 0,36	10,84 a ± 1,28	1,02 cd ± 0,07	0,93 d ± 0,15
T4- expeller chía	19,39 b ± 0,46	2,34 d ± 0,25	8,40 a ± 0,01	37,37 d ± 1,32	20,49 b ± 0,94	7,51 b ± 1,12	1,22 b ± 0,16	1,23 bc ± 0,23
T5- aceite lino	20,73 b ± 1,93	3,00 b ± 0,55	8,21 ab ± 0,20	40,36 bc ± 3,03	16,70 c ± 1,94	6,50 b ± 2,47	1,10 bcd ± 0,07	1,45 ab ± 0,28
T6- aceite chía	19,97 b ± 0,77	2,66 bcd ± 0,26	8,43 a ± 0,90	34,20 e ± 1,53	19,17 b ± 0,46	10,98 a ± 0,54	0,93 d ± 0,08	1,15 cd ± 0,18
T7- aceite RCR	22,37 a ± 0,61	3,86 a ± 0,29	7,31 b ± 0,60	41,61 b ± 1,71	13,90 d ± 0,81	3,64 c ± 0,71	1,06bcd ± 0,11	1,48 ab ± 0,08
T8- control AGAO	22,57 a ± 0,77	2,66 bcd ± 0,21	8,01 ab ± 0,50	41,54 b ± 3,03	19,05 b ± 2,41	1,04 d ± 0,12	1,83 a ± 0,14	0,96 d ± 0,13
T9- control soja	23,34 a ± 0,37	2,62 bcd ± 0,11	8,38 a ± 0,36	37,47 d ± 1,13	22,57 a ± 1,02	1,43 d ± 0,29	1,65 a ± 0,10	0,95 d ± 0,05
T-10 cobre tribásico	26,23 a ± 0,42	2,41 cd ± 0,02	8,58 a ± 0,36	36,93 d ± 1,05	22,52 a ± 0,32	1,30 d ± 0,06	1,82 a ± 0,16	1,04 cd ± 0,05

Todos los valores corresponden al promedio ± error estándar.

Tamaño muestral: $n = 4$ para cada tratamiento y ácido graso.

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente ($P < 0,05$)

¹ ácido docosahexaenoico (DHA).

Tabla 19. Composición de ácidos grasos en yemas de huevos producidos por gallinas, alimentadas con distintas fuentes de lípidos durante el tercer período.

Tratamientos	16:0 palmitico	16:1 n-7 palmitoleico	18:0 esteárico	18:1 n-9 oleico	18:2 n-6 linoleico	18:3 n-3 Linolenico	20:4 n-6 araquidónico	22:6 n-3 DHA ¹
T1- semilla lino	19,58 cd ± 0,82	2,66 bc ± 0,43	8,07 cd ± 0,47	42,73 b ± 1,23	15,52 c ± 0,86	6,56 c ± 0,95	1,14 c ± 0,09	1,30 a ± 0,13
T2- semilla colza	19,26 cd ± 1,31	2,57 bc ± 0,25	6,78 e ± 0,38	49,90 a ± 1,05	14,53 c ± 0,75	1,37 e ± 0,07	1,58 ab ± 0,10	0,84 cd ± 0,18
T3- semilla chía	18,05 d ± 1,30	2,39 bc ± 0,16	8,33 bc ± 0,17	36,61 d ± 1,00	18,52 b ± 1,90	11,33 a ± 1,17	1,19 c ± 0,11	1,02 bc ± 0,17
T4- expeller chía	19,8 c ± 1,00	2,52 bc ± 0,11	8,45 bc ± 0,33	35,45 d ± 3,07	18,38 b ± 0,53	9,22 b ± 1,20	1,11 c ± 0,07	1,05 bc ± 0,05
T5- aceite lino	20,06 c ± 1,10	2,61 bc ± 0,47	9,13 a ± 0,53	38,15 cd ± 2,28	17,86 b ± 1,00	7,34 c ± 0,89	1,06 c ± 0,24	1,01 bc ± 0,31
T6- aceite chía	20,41 c ± 1,39	2,57 bc ± 0,31	9,20 a ± 0,70	35,46 d ± 2,25	18,78 b ± 2,00	9,38 b ± 1,66	1,04 c ± 0,12	0,89 cd ± 0,18
T7- aceite RCR	24,26 a ± 0,60	3,93 a ± 0,20	7,54 d ± 0,23	41,00 bc ± 1,70	14,09 c ± 0,67	3,65 d ± 0,18	1,06 c ± 0,13	1,19 ab ± 0,21
T8- control AGAO	22,95 ab ± 0,82	2,81 b ± 0,32	8,00 cd ± 0,22	42,53 b ± 2,56	18,09 b ± 2,20	0,96 e ± 0,16	1,68 a ± 0,15	0,64 d ± 0,13
T9- control soja	22,42 b ± 0,54	2,32 c ± 0,11	8,32 bc ± 0,60	36,61 d ± 2,80	22,96 a ± 0,80	1,40 e ± 0,15	1,43 b ± 0,27	0,75 d ± 0,27
T10- cobre tribásico	23,56 ab ± 1,22	2,47 bc ± 0,24	8,81 ab ± 0,12	36,36 d ± 1,50	22,52 a ± 0,88	1,17e ± 0,03	1,70 a ± 0,13	0,83 cd ± 0,10

Todos los valores corresponden al promedio ± error estándar.

Tamaño muestral: $n = 4$ para cada tratamiento y ácido graso.

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente ($P < 0,05$)

¹ ácido docosahexaenoico (DHA).

7.3.2- ÁCIDOS GRASOS AGRUPADOS Y RELACIÓN N-6/N-3

A continuación, en las Tablas N° 20 y 21 se presentan los distintos AG agrupados, según su grado de instauración en AGS, AGMI y AGPI, así como la sumatoria de n-6, n-3 y la relación n-6/n-3.

- En el primer período (Tabla N° 20), el contenido de AGS fue menor ($p<0,05$) en todos los tratamientos con fuentes de n-3, con respecto al control T9; excepto T8 y T10. El menor ($p<0,05$) valor lo obtuvo el T2 comparado con el control T9 y demás tratamientos, encontrándose una diferencia del 17% menos que el control T9. Los T8 y T10 no presentaron diferencias con el control T9.

En el tercer período (Tabla N° 21) sólo el contenido de AGS de T1, T2, T3 y T4 fue ($p<0,05$) menor con respecto al control T9.

- En el período 1, los T3, T4 y T10 no presentaron diferencias con el control T9. El mayor ($p<0,05$) contenido de AGMI lo tuvo el T2 con respecto al control T9, siendo la diferencia de un 27%. Los tratamientos T1, T5, T7 y T8 también superaron al control T9. El T6 presentó el valor ($p<0,05$) más bajo en AGMI, no observándose diferencias entre T9 y T10 (Tabla N° 20).

En el período 3 (Tabla N° 21), no hubo diferencias entre los tratamientos respecto al control T9, excepto nuevamente el T2 que tuvo el mayor contenido ($p<0,05$), siendo la diferencia en esta oportunidad del 34,7%; y los tratamientos T1, T7 y T8 que también superaron ($p<0,05$) al control T9.

- En el primer período (Tabla N° 20), el mayor ($p<0,05$) contenido de AGPI fue del T6, con respecto al control T9 y demás dietas, excepto T4. Mientras que los T3 y T4, también lo fueron comparado con el control T9 y los otros tratamientos. El menor contenido ($p<0,05$) fue registrado en los T2, T7 y T8.

En tercer período, los tratamientos T3, T4 y T6 presentaron los mayores valores ($p<0,05$) comparados con el control T9 y demás dietas. Mientras que el menor contenido ($p<0,05$) lo presentó el T2, alcanzando hasta el 32,1% dicha reducción comparado con el control T9 (Tabla N° 21).

- En el período 1 (Tabla N° 20), el contenido de n-6 de todos los tratamientos fue menor ($p<0,05$) comparado con el control T9; excepto T10.

Igual comportamiento tuvieron los tratamientos en el período 3 (Tabla N° 21). El T7, presentó un contenido del 38% menor con respecto al control T9.

- El contenido de n-3 de todos los tratamientos que incluían fuentes de n-3 fueron mayores ($p<0,05$) respecto del control T9; excepto los T2, T8 y T10, en el primer período (Tabla N° 20). El tratamiento T3 alcanzó un incremento ($p<0,05$) de hasta de un 516% con respecto al control T9.

Mientras que en el tercer período (Tabla N° 21), también todos los tratamientos presentaron mayores ($p<0,05$) contenidos que el control T9; exceptuando a los mismos T2, T8 y T10. Esta vez el T3, presentó un contenido ($p<0,05$) mayor con respecto al control T9 (79%).

- En el primer período (Tabla N1° 20) la relación n-6/n-3 de todos los tratamientos que incluían fuentes de n-3, fue menor ($p<0,05$) respecto del control T9.

En el tercer período (Tabla N° 21), la relación n-6/n-3 de todos los tratamientos que incluían fuentes de n-3, fue menor ($p<0,05$) respecto del control T9; excepto los T8 y T10 quienes fueron mayores ($p<0,05$).

Tabla 20. Composición de ácidos grasos en yemas de huevo durante el primer período

Tratamientos	AGS %	AGMI %	AGPI %	n-6	n-3	n-6/n-3
T1- semilla lino	29,05 cd ± 1,09	45,23 b ± 1,40	23,85 ef ± 2,09	16,16cd ± 1,20	7,68 b ± 1,70	2,18 d ± 0,50
T2- semilla colza	26,56 e ± 0,22	50,92 a ± 1,73	20,32 g ± 0,61	17,46 c ± 0,73	2,87 d ± 0,18	6,12 c ± 0,59
T3- semilla chía	28,98 cd ± 1,23	40,37 c ± 0,35	29,37 bc ± 1,67	17,59 c ± 0,32	11,78 a ± 1,38	1,51 d ± 0,15
T4- expeller chía	28,03 d ± 0,70	39,71 cd ± 1,52	30,90 ab ± 0,90	21,83 b ± 1,08	9,07 b ± 0,96	2,43 d ± 0,33
T5- aceite lino	29,23 cd ± 1,01	43,35 b ± 3,52	26,24 de ± 4,47	17,93 c ± 1,90	8,31 b ± 2,58	2,30 d ± 0,63
T6- aceite chía	28,65 d ± 1,20	36,95 d ± 1,36	32,75 a ± 0,62	20,22 b ± 0,40	12,52 a ± 0,52	1,62 d ± 0,08
T7- aceite RCR	30,19 bc ± 0,51	45,46 b ± 1,72	20,48 g ± 1,48	15,03 d ± 0,90	5,46 c ± 0,70	2,78 d ± 0,26
T8- control AGAO	30,88 ab ± 1,90	44,20 b ± 3,21	23,18 fg ± 2,75	21,04 b ± 2,55	2,14 d ± 2,33	9,86 b ± 0,73
T9- control soja	32,00 a ± 0,52	40,09 c ± 1,13	26,28 de ± 0,96	24,37 a ± 1,20	1,91 d ± 0,36	13,24 a ± 3,40
T10- cobre tribásico	31,49 ab ± 0,65	39,34 cd ± 1,05	26,98 cd ± 0,33	24,52 a ± 0,27	2,45 d ± 0,10	10,00 b ± 0,36

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente ($p < 0,05$); AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados; n-6: Omega-6; n-3 Omega-3.

Tabla 21. Composición de ácidos grasos en yema de huevo durante el tercer período

Tratamientos	AGS %	AGMI %	AGPI %	n-6	n-3	n-6/n-3
T1- semilla lino	27,91 de ± 0,94	45,38 b ± 1,43	25,04 b ± 1,64	16,78 c ± 0,94	8,27 c ± 0,97	2,05 de ± 0,19
T2- semilla colza	26,35 e ± 1,61	52,47 a ± 1,24	18,54 d ± 0,94	16,23 c ± 0,85	2,31 e ± 0,14	7,05 c ± 0,36
T3- semilla chía	26,64 e ± 1,18	38,99 c ± 1,11	32,62 a ± 1,32	19,82 b ± 1,30	12,80 a ± 1,13	1,56 e ± 0,20
T4- expeller chía	28,62 cd ± 1,21	37,97 c ± 3,10	30,19 a ± 1,33	19,62 b ± 0,56	10,58 b ± 1,20	18,7 de ± 0,20
T5- aceite lino	29,49 bcd ± 0,85	40,76 c ± 2,02	27,56 b ± 2,04	19,03 b ± 1,00	8,54 c ± 1,20	2,26 de ± 0,30
T6- aceite chía	29,92 bc ± 1,66	38,03 c ± 2,56	30,61 a ± 3,90	19,99 b ± 2,02	10,62 b ± 1,91	1,91 de ± 0,20
T7- aceite RCR	32,41 a ± 0,92	44,93 b ± 1,64	20,24 cd ± 0,61	15,28 c ± 0,60	4,97 d ± 0,15	3,08 d ± 0,15
T8- control AGAO	31,29 ab ± 0,74	45,35 b ± 2,84	21,60 c ± 2,50	19,89 b ± 2,30	1,71 e ± 0,19	11,64 a ± 0,67
T9- control soja	31,19 ab ± 0,97	38,94 c ± 2,77	27,32 b ± 0,51	24,57 a ± 0,94	2,75 e ± ,072	9,36 b ± 2,20
T10- cobre Tribásico	32,73 a ± 1,40	38,83 c ± 1,40	26,46 b ± 0,93	24,38 a ± 0,90	2,08 e ± 0,09	11,71 a ± 0,29

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente ($p < 0,05$); AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados; n-6: Omega-6; n-3: Omega-3.

7.3.3- CONTENIDOS DE N-3 y N-6 EN YEMA DE HUEVOS

Los contenidos promedios de los AGPI n-3 y n-6 en mg por g de yema de huevo y en mg por yema de huevo, muestran los siguientes resultados (Tablas N° 22 y N° 23).

- En el primer período, los T3 y T6 tienen un contenido de n-3 en mg/g de yema, y mg/yema en huevos de gallinas, significativamente ($p<0,05$) más alto, que el control T9 y los otros tratamientos (Tabla N° 22). Mientras que los tratamientos ricos en ALA: T1, T4 y T5, también produjeron contenidos más altos ($p<0,05$) en mg/ g de yema y mg/yema, que el control T9, y demás dietas.

En el tercer período (Tabla N° 23), el T3 presenta el contenido de n-3 significativamente más alto ($p<0,05$) tanto en mg/g de yema, como en mg/yema con respecto al control T9, y a los otros tratamientos. Los T4 y T6 son mayores ($p<0,05$) en mg/g de yema que el control T9 y demás dietas, excepto T5. Mientras que el T6 es ($p<0,05$) mayor en el contenido de mg/yema comparado con el control T9 y los otros tratamientos, excepto T4 y T5.

En el primer período (Tabla N° 22), el contenido de AG n-6 en mg/ g de yema y en mg/yema de los huevos producidos por gallinas alimentadas con el control T9, presentó el contenido más alto entre los tratamientos; siendo las diferencias significativas ($p<0,05$) cuando se comparó con los T1, T2, T3, T5 y T7 tanto en mg/g de yema; como en mg/yema respectivamente.

En el tercer período (Tabla N° 23), para el contenido de n-6 en mg/g de yema, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, respecto del control T9; excepto los T1, T2 y T7 que fueron significativamente menores ($p<0,05$). Mientras que en el contenido de n-6 en mg/yema tampoco hubo diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al control T9, excepto en los T1, T2, T4 y T7 que resultaron ser ($p<0,05$) menores.

Tabla 22. Contenido de AGPI n-3 y n-6 en huevos, durante el primer período.

Tratamientos	Total n-3	Total n-6	Total n-3	Total n-6
	mg/g de yema		mg /yema	
T1- semilla lino	27,28 b ± 5, 07	57,77 cd ± 4,03	392,62 bc ± 86,19	824,73 d ± 37,52
T2- semilla colza	9,78 d ± 1,53	59,17 cd ± 3,62	160,66 de ± 37,00	967,55 cd ± 136,03
T3- semilla chía	44,59 a ± 11,67	66, 26 bc ± 12,49	740,15 a ± 186,04	1104,38 bc ± 224,93
T4- exepller chía	32,75 b ± 5,55	79,25 ab ± 15,21	513,25 b ± 112,57	1233,25 ab ± 252,82
T5- aceite lino	30,44 b ± 10,81	65,82 bc ± 11,51	535,00 b ± 192,23	1155,45 bc ± 205,32
T6- aceite chía	46,51 a ± 3,05	75,09 ab ± 4,11	759,80 a ± 115,55	1223,64 ab ± 150,36
T7- aceite RCR	18,47 c ± 2,15	51,02 d ± 4,80	282,38 cd ± 46,83	777,81 d ± 100,14
T8- aceite AGAO	7,50 d ± 1,11	73,73 ab ± 10,50	120,32 de ± 10,60	1181,19 abc ± 66,71
T9- control soja	6,52 d ± 1,19	83,66 a ± 8,01	111,57 e ± 24,96	1425,86 a ± 169,22
T10- cobre tribásico	7,95 d ± 0,81	79,41 ab ± 6,93	130,48 de ±10,14	1302,43 ab ± 60,18

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05).

Tabla 23. Contenido de AGPI n-3 y n-6 en huevos, durante el tercer período

Tratamientos	Total n-3	Total n-6	Total n-3	Total n-6
	mg/g de yema		mg /yema	
T1- semilla lino	20,97 c ± 2,62	42,55 cd ± 3,49	386,62 c ± 22,71	790,38 cd ± 90,38
T2- semilla colza	6,21 e ± 0,43	43,70 cd ± 3,10	109,67 e ± 8,54	771,39 cd ± 51,34
T3- semilla chía	34,85 a ± 3,86	53,88 bc ± 3,30	582,70 a ± 80,74	912,65 bcd ± 183,37
T4- exepiller chía	25,57 b ± 4,46	47,30 bcd ± 6,00	416,67 bc ± 73,95	770,50 cd ± 95,80
T5- aceite lino	24,02 bc ± 2,98	53,80 bc ± 5,03	460,15 bc ± 94,95	1025,58 abc ± 153,37
T6- aceite chía	27,23 b ± 3,90	51,35 bc ± 2,97	491,23 b ± 57,89	927,98 bc ± 24,84
T7- aceite RCR	12,14 d ± 1,34	37,28 d ± 2,70	211,74 d ± 15,48	650,75 d ± 35,61
T8- aceite AGAO	4,29 e ± 0,33	50,10 bcd ± 6,06	80,30 e ± 8,40	936,95 bc ± 131,93
T9- control soja	6,13 e ± 1,68	58,13 ab ± 23,72	116,73 e ± 29,61	1096,08 ab ± 413,82
T10- cobre tribásico	5,78 e ± 0,16	67,74 a ± 3,03	107,41 e ± 6,06	1257,98 a ± 78,25

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05).

7.3.4- PERFIL DE COLESTEROL EN HUEVO

Aquí los resultados fueron medidos en mg de colesterol por gramo de yema (mg/g de yema).

En el primer período, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos analizados y el control (ver Tabla N° 24). Mientras que el T10 tuvo un contenido menor ($p < 0,05$) comparado con los T1, T2, T3, T4 y T6.

En el tercer período (Tabla N° 24), el contenido promedio de colesterol no presentó diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al control T9; y el T10 fue menor ($p < 0,05$) que el T2.

Tabla 24. Contenido de colesterol en yemas, durante el primer y el tercer período

TRATAMIENTOS	PRIMER PERÍODO	TERCER PERÍODO
	mg/g yema	
T1- semilla lino	13,83 a ± 2,22	9,42 ab ± 1,75
T2- semilla colza	13,49 a ± 2,01	10,64 a ± 0,47
T3- semilla chía	12,89 a ± 3,08	10,32 ab ± 1,34
T4- expeller chía	13,29 a ± 2,69	9,49 ab ± 2,50
T5- aceite lino	12,75 ab ± 1,31	9,68 ab ± 1,20
T6- aceite chía	13,26 a ± 1,18	9,08 ab ± 0,37
T7- aceite RCR	12,24 ab ± 1,95	9,26 ab ± 1,30
T8- control AGAO	11,59 ab ± 0,48	9,60 ab ± 0,58
T9- control soja	11,14 ab ± 1,25	9,60 ab ± 0,61
T10- cobre tribásico	9,75 b ± 1,01	8,48 b ± 0,35

Medias dentro de una misma columna con distinta letra difieren significativamente (p<0,05)

8- DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

8.1. PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

Se encontraron diferencias mínimas pero significativas, entre los tratamientos que contenían semillas comparados con el control.

Por el contrario, no se observaron diferencias en el desempeño de las aves que recibieron dietas con distintos aceites como fuentes de AG n-3.

Los cianoglicosides tóxicos (linamarin) o anti-nutricionales y los compuestos antagonistas de la vitamina B6 presentes en las semillas de lino, han sido sugeridos como fuente de resultados similares (Oomaha *et al.* 1992; Bhatti, 1993; Chadha *et al.* 1995; Bond *et al.* 1997; Vetter, 2000).

Ayerza y Coates, (2001), mostraron que a partir de un cierto nivel de lino en la dieta, la productividad de gallinas ponedoras decrecía.

Los compuestos anti-nutricionales en semillas de lino, han sido considerados como la fuente de los efectos negativos que se encontraron al alimentar gallinas en general (Lee *et al.* 1995); entre genotipos y edad del ave (Amini y Ruíz-Feria, 2007).

En otros trabajos científicos realizados en animales, se advirtieron efectos negativos del lino en preñez, desarrollo reproductivo y lactancia. Esto es debido a la acción del dicycloside eicosalarariciresinol, que por acción microbiana actúa en mamíferos como depresor o potenciador estrogénico (Vanderveen, 1986).

Con semilla de lino, se observó una caída en la conversión por kg (5%) de menor magnitud que la observada con pollos (20%) según lo demostrado por Azcona *et al.* (2005) sin que se afecte el índice de postura. Este resultado indicaría que con aves adultas el efecto adverso de los mucílagos o factores antinutricionales del lino, sería menor.

El T2 conteniendo semilla de colza, también mostró un menor desempeño de las aves, comparado con el control.

Muchas variedades de colza contienen ácido erúcico (entre un 20% a 55%) tóxico para los humanos (Pass y Pierce, 2002); así como también presentan compuestos glucosinolatos en concentraciones lo suficientemente altas como para afectar el funcionamiento productivo de las aves (National Research Council, 1994) que provocan problemas de toxicidad como producto de su descomposición en tiocianatos, isotiocianatos y nitrilos que son anti-nutricionales y tóxicos para animales (Valetti, 1996); considerándose indeseables porque causan efectos dañinos al reducir el nivel de hormonas y ocasionar anomalías en el desarrollo del hígado, riñones y tiroides, de acuerdo con pruebas realizadas en ratones (Heaney y Fenwick, 1995).

Un factor que explicaría el menor desempeño de las aves en los tratamientos con semillas de chía, podría ser el alto contenido de fibras de las mismas (Tabla I del Anexo). Coincidiendo con los resultados del presente trabajo, un alto porcentaje de semilla de chía en la dieta de las gallinas afectó el desempeño de las aves. (Ayerza y Coates, 1999, 2002)

Con semilla de chía, también aparece afectada la conversión debido a un consumo más alto, que no estaría relacionada a una caída en EMV, dado que este valor fue similar al del control.

Comparando la respuesta zootécnica obtenida, con la de los estándares de la línea genética utilizada (Shaver, 2005), el resultado de las distintas dietas evaluadas fue similar; lo cual, brindaría confiabilidad respecto al aporte de nutrientes.

Esto indicaría que en general las dietas experimentales no fueron inapropiadas para las gallinas. Por otra parte, los efectos adversos observados podrían ser resueltos en alguna medida, reduciendo el nivel de inclusión de estas semillas.

8.2. CALIDAD DEL HUEVO

➤ En cuanto a los resultados obtenidos en la evaluación de la **calidad externa del huevo**, coinciden con lo expuesto por North, (1993); Coutts y Wilson, (1995) quienes afirman que la edad de la gallina, influye en la composición del huevo, al aumentar la edad, aumenta la rotura de la cáscara, aumenta el peso, el peso seco y el porcentaje de yema en huevo; mientras que disminuye el porcentaje de cáscara, de albúmina y sólidos en ésta.

Los menores valores encontrados en cáscara en los T2 y T3 con respecto al control, coinciden con lo encontrado por Kratzer *et al.* (1954) quien usó alimentos para pollos preparados con colza, lo que produjo un aumento de la glándula tiroides, el cual no fue contrarrestado con el suministro de yoduro de potasio. Se requirió aportar lisina adicionalmente para lograr un óptimo crecimiento de los pollos y pigmentación de la pluma; en este experimento se evaluó, el efecto del glucosinolato presente en una dieta con semillas de colza -planta bociógena del género Brassica- en la transferencia del yodo de la dieta al huevo.

Asociando de esta manera, la importante participación del yodo en el metabolismo del calcio y de este último en la formación y constitución de la cáscara del huevo, se podría inferir que la colza a través de su efecto glucosinolato y bociógeno, inhiba parcialmente la absorción del calcio y así se formen huevos con menor calidad de cáscara.

También en un estudio realizado por Lichovnikova *et al.* (2008), se reporta que el contenido de glucosinolatos se ha reducido actualmente en las dietas a base de colza, sin embargo contienen sinapina -un precursor de trimetilamina- y goitrina, que al existir una reducción de la enzima trimetilamino oxidasa, dan un aspecto desagradable a la yema, que afectan la aceptación del huevo por parte del consumidor. La suplementación con yodo mejoró el peso del huevo y la yema pero no lo hizo en la cualidad sensorial de huevos producidos con una alimentación a base de colza. Asimismo, este autor reporta que obtuvo bajos porcentajes

en la producción de huevos, y con desagradable olor a pescado, en gallinas ponedoras alimentadas con colza: 3,4% en Hy-Line y 7,4% en ISA Brown, lo que apunta a la selección en el cruzamiento de las ponedoras como parte de la solución.

➤ De la evaluación de la **calidad interna del huevo** no se observaron diferencias entre tratamientos. Por el contrario, la edad del ave afectó este parámetro coincidiendo con lo expuesto por Coutts y Wilson, (1995) quienes afirman que la edad de la gallina, incrementa la presencia de albúmina acuosa, y también con el almacenamiento, principalmente si estuvieron sometidos a elevadas temperaturas y baja humedad relativa; también indican que según aumenta la edad de las aves, el valor de unidades Haugh decrece en 1,5 a 2 unidades por mes de postura.

8.3.- CONTENIDO Y COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y COLESTEROL EN YEMA DE HUEVOS

➤ La disminución significativa en el contenido de AG palmítico que se encontró en las gallinas alimentadas con las dietas ricas en AG n-3, comparadas con las dietas tradicionales a base de maíz y soja; podría atribuirse a la alta ingesta de este AGPI, ya que se demostró que esta incorporación reduce la síntesis hepática de AGS (Sim y Qi, 1995). La mayor reducción del ácido palmítico que se encontró en las dietas con chía, varió entre un 15% a un 19% para el primer y tercer período respectivamente, comparada con las dietas tradicionales de maíz, lo cual tendría implicancias significativas en la salud humana. Estos resultados, coinciden con los citados por Ayerza y Coates, (2000 - 2001); Ayerza *et al.* (2002), quienes mostraron una fuerte reducción en los AGS totales y especialmente del AG palmítico encontrado en los huevos y en la carne de pollo de aves alimentadas con chía.

Los AGS, en particular el AG palmítico, han demostrado que aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares por su efecto hipercolesterolémico. Como consecuencia, se recomienda disminuir el consumo de este AG.

Trabajos comparativos de huevos regulares y huevos enriquecidos en n-3 utilizando AG ALA en la dieta de gallinas, e incluyendo tales huevos en la alimentación humana, han probado la capacidad de éstos últimos de disminuir el riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular, al reducir el contenido de triglicéridos y colesterol en plasma, y además, la presión sanguínea. Por el contrario, los huevos regulares aumentaron estos parámetros y, por lo tanto, la posibilidad de sufrir una enfermedad cardio-coronaria (Oh *et al.* 1991; Ferrier *et al.* 1992 - 1995).

➤ El aumento significativo del contenido de ácido oleico en las yemas de huevos encontrado en el T2, está asociado con el mayor

contenido de este AG en la dieta debido a la inclusión de colza. Las dietas T1 y T7, las cuales tenían el segundo y tercer oleico dietario más alto, fueron las que en ese orden, presentaron incrementos en el contenido de oleico en huevo.

Mientras que, la disminución en el ácido oleico en las otras dietas, podría estar relacionada con el efecto inhibitor de AGPI sobre la actividad de la desaturasa Δ -9; también se produjo una disminución de la producción del AG esteárico (precursor del AG oleico) coincidiendo con lo reportado en otros trabajos realizados con animales (Brenner *et al.* 1974; Garg *et al.* 1988 a).

Estudios de Ayerza y Coates, (1999) describen que la disminución en el contenido de AGMI en yemas de huevo, se producía a medida que los AG n-3 aumentaron con la dieta en gallinas alimentadas con el 7%, 14%, 21% y 28% de semillas de chía; esto se basa en la correlación que se encuentra entre el AG oleico disminuido y el n-6 y ALA aumentados en las yemas de huevos mencionadas.

Nuestros resultados concuerdan también con otros trabajos hechos por Ayerza y Coates, (2000); Ayerza *et al.* (2002), quienes encontraron que el contenido de AGMI disminuido se producía al aumentar los AGPI en la dieta de las aves.

➤ Acerca de la relación entre los contenidos de n-6 dietario en las yemas de huevos, coincidentemente con este trabajo, diversos estudios mostraron (Cherian y Sim, 1991; Cherian *et al.* 1995; Beynen, 2004) una disminución de AG n-6 de cadena larga así como de ácido homo- γ -linolénico y araquidónico, en yemas de huevos de gallinas alimentadas con dietas ricas en AG ALA.

Al competir el AG n-6 y el ALA por las enzimas Δ -6 y Δ -5 involucradas en el proceso de desaturación y elongación Hayek y Reinhart (1998), sugieren que el bajo contenido de AG n-6 con un contenido de ALA aumentado en la dieta ha surgido por esta competencia.

Además, ya que estas enzimas prefieren elongar y desaturar a los miembros de la familia de AG n-3, antes que la familia n-6 (Craig-Schmidt *et al.* 1987), la caída en dicha conversión se exagera; lo cual es sustentado por los resultados de correlación presentados anteriormente.

➤ En general al aumentar el contenido del ALA en la dieta, más allá de su origen, aumentó el contenido de AG ALA en las yemas de huevos.

En el presente estudio, las dietas fueron formuladas tratando de lograr el máximo nivel de inclusión posible de cada fuente de AG n-3 manteniendo una composición balanceada de nutrientes.

En el caso de semillas de lino y chía, los niveles de inclusión no fueron iguales y en consecuencia el contenido de AG n-3 de las dietas fue diferente. Por lo tanto, las diferencias observadas en el contenido AG n-3 en huevo podrían explicarse por las diferencias en contenido de ALA en la dieta, y/o por una mayor eficiencia en la incorporación de estos AG según el tipo de semillas considerado.

Con semilla, expeller y aceite de chía se produjeron huevos con el mayor contenido de ALA en ambos períodos con respecto al control T9.

Los contenidos de n-3 aquí encontrados, son semejantes con los 568 mg/huevo y 923 mg/huevo producidos por las gallinas ponedoras alimentadas con dietas del 14% y 21% de semillas de chía respectivamente (Ayerza y Coates, 2000).

Coincidentemente en otros trabajos Ayerza y Coates (2001), encontraron un contenido de ALA significativamente más alto en las yemas de huevos de gallinas alimentadas con semillas de chía, comparadas con semillas de lino. Esto podría atribuirse en parte a la mayor eficiencia en la deposición de AG mostrada por la chía, comparada con el lino, y podría estar relacionada con el proceso de digestión de los lípidos. La utilización digestiva de los AG varía, de acuerdo a su posición en la molécula de glicerol; por lo tanto, las diferencias entre la posición del AG ALA de la chía y el lino, podrían explicar la mayor incorporación de los AG n-3 de la chía

respecto del lino (Porsgaard y Høy, 2000; Straarup y Høy, 2000; Innis y Dyer, 1997; Lessire *et al.* 1996).

Otros investigadores, sugieren que la deposición de AG ALA en el tejido de las aves es dependiente de su origen, con una conversión superior en semillas de chía comparada a las semillas de lino, atribuido a la presencia de antioxidantes encontrados en la chía pero ausente en las semillas de lino (Taga *et al.* 1984; Asghar *et al.* 1990; Ajuyah *et al.* 1993; Reyes- Caudillo *et al.* 2008; Ayerza y Coates, 2009).

La chía se caracteriza por contener una cantidad de compuestos con potente actividad antioxidante como quercetina, kaemperol, ácido clorogénico y ácidos cafeico (Taga, 1984) por lo que sería una muy buena opción como fuente de n-3, ya que elimina la necesidad de utilizar antioxidantes artificiales como las vitaminas (Ayerza y Coates, 2009).

También se sugiere como otra alternativa válida, el uso de AGAO, ya que los AGMI n-9, tardan cuarenta veces más en oxidarse que el AGPI n-6. De ahí su importancia en góndola, para sustituir a los aceites convencionales de maíz y girasol (Delplanaque *et al.* 2002).

➤ Todas las dietas ricas en AG ALA produjeron proporciones n-6/n-3 significativamente más bajas comparadas con las dietas T2, T8; T9 y T10 en ambos períodos; la diferencia podría atribuirse a que estos últimos tratamientos tienen el contenido más bajo de AG ALA y el más alto de AG linoleico.

Numerosos estudios epidemiológicos mostraron que la relación n-6/n-3 en la dieta humana se considera un pronosticador importante del riesgo de enfermedades cardiovasculares. Debe consumirse una proporción de AG n-6/n-3 apropiada (Simopoulos, 2004), con relaciones dietarias de 5:1 o aún menores recomendadas por los expertos nutricionistas (ISSFAL, 2004; Simopoulos, 2008).

Las proporciones más bajas en la relación n-6/n-3, halladas en las yemas de huevos en este estudio al agregar ALA a la dieta de la gallina, son similares a aquellas encontradas en las yemas de huevo producidas

por gallinas criadas a campo, alimentadas con vegetales de hoja verde, frutas secas y frescas, insectos, gusanos, etc. (Simopoulos y Salem, 1992).

➤ El incremento significativo de AG n-3 DHA de cadena larga encontrado en las yemas de la mayoría de los tratamientos con ALA, se originó principalmente por la desaturación y elongación de ALA en los hígados de las gallinas, ya que las dietas no contenían DHA.

Los niveles de DHA encontrado aquí, fueron similares a los informados por Ayerza y Coates (2001), cuando las dietas contenían mezclas de semillas de chía y semillas de lino. En otra prueba en la cual las gallinas fueron alimentadas con dietas conteniendo 7%, 15%, 21% y 28% de semillas de chía, se observó, que el contenido de DHA disminuyó con el aumento del porcentaje de semilla de chía y con el tiempo. (Ayerza y Coates, 2000). La disminución del contenido de DHA durante los experimentos anteriormente citados concuerda con las pruebas actuales y son concomitantes con un aumento en el contenido de ALA de las yemas, en las dietas con chía y con semilla de lino.

Se ha establecido que los AG n-3 de cadena larga como el DHA tienen efectos inhibidores más fuertes en las enzimas desaturasa Δ -6 y Δ -5 involucradas en el proceso de elongación y desaturación del ALA (Garg *et al.* 1988b), de este modo podrían indicar una regulación biológica para la incorporación de DHA en los tejidos, sugerido por Ayerza y Coates (2000).

➤ De esta manera, los huevos producidos por las gallinas alimentadas con chía y lino proveyeron proporciones de AG semejantes a las recomendaciones dietarias actuales, dándoles a estos huevos una ventaja nutricional significativa comparadas con aquellas de las dietas comerciales.

Como se demuestra en este estudio, pueden producirse alimentos para humanos (como huevos) a partir de AG n-3 provenientes de fuentes

vegetales; con bajo contenido de AGS; una baja relación n-6/n-3; enriquecidos con AGMI (n-9) y AGPI (n-3), cumpliendo así con las recomendaciones de los organismos internacionales como FAO y OMS, tal como lo presentan en un estudio Peterson, G *et al.* (2004):

a) Que hasta un 30% de las calorías totales de la dieta, provengan de las grasas.

b) Que menos del 10% de las calorías totales de la dieta, sean AGS; y menos del 1% grasas trans.

c) Que entre un 6 y 8% de las calorías totales de la dieta, provengan de AG n-6; y entre un 1 a 2% de AG n-3, (no se hacen especificaciones acerca de las grasas n-9, su cantidad se obtiene por diferencia).

➤ En este estudio el contenido de colesterol en yema de huevo de los tratamientos con fuentes de n-3, mostró una tendencia ascendente, excepto con el T10, que mediante la inclusión de cobre tribásico presentó los niveles más bajos de colesterol. No observándose diferencias significativas entre tratamientos respecto del control.

Iglesias *et al.* (2007) demostraron que con el uso de 150 PPM de cobre tribásico en la dieta de ponedoras, si bien no produjo mejoras en los parámetros productivos, fue posible reducir significativamente el contenido de colesterol en huevo.

Tal como lo describen Pesti *et al.* (1995); Pesti y Bakalli (1996-1998), los mecanismos por los cuales actuaría el cobre, estarían relacionados con efectos sobre el metabolismo de los lípidos, como la reducción de enzimas tales como glutatión reducido (GSH), ácido graso sintetasa (FAS), colesterol hydroxylasa. Lo cual sugiere que con mayores concentraciones de cobre tribásico que la empleada en el T10, se podría disminuir el colesterol en yema de huevos.

La inclusión de cobre tribásico en dietas con alto contenido de AGPI fuente de n-3 podría ser considerada para mantener el nivel de colesterol en huevo a niveles semejantes a los del control.

Además, en otros trabajos se demuestra que es posible la reducción de colesterol en huevos a través de la dieta de la gallina, con el uso de distintas fuentes, a saber:

La administración de ajo (*Allium sativum*) a ponedoras Hisex Brown, Isa Brown, Lohmann, Starcross, Babcock y Starcross-579, redujo el colesterol sérico y en huevos, sin la aparición de efectos adversos (Chowdhury *et al.*, 2002).

La HMG-CoA (3 hidroxil-3-metilglutaril-CoA) reductasa (HMGR), cataliza los diferentes pasos en la biosíntesis de colesterol. Las estatinas son HMG-CoA (3 hidroxil-3-metilglutaril-CoA) reductasa (HMGR) inhibidoras, por lo que reducen el colesterol del suero (Istvan y Deisenhofer, 2001).

La atorvastatina parece ser el más potente compuesto investigado en ponedoras, en reducir el colesterol. Pero probablemente los más grandes avances en la reducción del colesterol, se logren mediante la transgénesis; ello dependerá del marco regulatorio para los alimentos producto de la bioingeniería, de la aceptación del consumidor y factores económicos (Elkin, 2007).

Otros autores como Garber *et al.* (1992) reportaron que el consumo de huevos enriquecidos con yodo, producidos por gallinas alimentadas con este mineral, reducen el colesterol plasmático en humanos y en animales de experimentación; hallaron que el efecto fue más pronunciado en personas con elevados valores iniciales de colesterol y en casos con hiperlipidemia mixta, es decir con elevado colesterol y triglicéridos.

El paulatino cambio de mentalidad y hábitos alimenticios más saludables en un importante sector de la población, permitiría predecir un crecimiento de este tipo de productos en el mercado. Estos huevos diferenciados por su mejor calidad nutricional y con ventajas para la salud

humana, tendrán un valor comercial superior al de los tradicionales, brindando oportunidades de mercado a las empresas que lo produzcan. Este tipo de huevos son un alimento natural de extraordinaria calidad y pueden proporcionarnos una cantidad controlada de estos AG n-3; su vida útil es mayor que la de otros productos frescos; está disponible en pequeñas cantidades; presente en todos los puntos de venta a lo largo de todo el año; y es asequible a todo el mundo; siendo una de las fuentes de proteína animal más económicas.

9- CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

De los resultados expuestos en el presente trabajo de Tesis Doctoral, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

*** PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS**

✓ Se logró una muy buena respuesta zootécnica comparable a los estándares de la línea genética. No obstante, en el caso de las distintas semillas evaluadas hubo algunos parámetros que no igualaron al control, lo que podría explicarse por la presencia de factores anti-nutricionales.

*** CALIDAD EXTERNA E INTERNA DE HUEVO**

✓ La calidad externa de los huevos disminuyó con la edad de las aves en todos los casos. Los tratamientos que utilizaron semilla de colza, chía y expeller de chía presentaron inferior calidad, comparada con el control.

✓ La calidad interna de los huevos, fue afectada solamente por el tiempo de almacenamiento, no observándose diferencias entre los distintos tratamientos.

*** CONTENIDOS DE ÁCIDOS GRASOS Y COLESTEROL EN HUEVOS**

a) El uso de distintas fuentes vegetales de AG n-3, permitió:

✓ Reducir el contenido de AGS en yema de huevos especialmente el ácido palmítico.

✓ Incrementar el contenido de AGMI en yemas de huevos, cuando se usaron los tratamientos con: semillas de colza y lino; aceites de lino y RCR.

✓ Producir huevos con niveles más altos de AG n-3, con las distintas fuentes evaluadas, excepto con colza. El mayor incremento se observó en el contenido de ALA, mientras que el de DHA si bien fue significativo, resultó de menor magnitud comparado con el ALA.

✓ Reducir el contenido de AG n-6, manifestándose el efecto más pronunciado con los tratamientos de aceite RCR; semillas de colza y lino.

✓ Producir huevos con una relación n-6/n-3 por debajo de 4:1, esta reducción significativa se dió principalmente cuando se usaron dietas con semillas y aceites de lino y chía y con expeller de chía.

b) El uso de cobre tribásico permitió:

✓ Producir huevos con menor contenido de colesterol con respecto al de los huevos de la mayoría de las fuentes de n-3 estudiadas. Su inclusión en este tipo de dietas podría ser recomendable.

10- BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- AHA-American Heart Association. 1988. Dietary guidelines for healthy American Adults: A statement for physicians and health professionals. *Arteriosclerosis* 8:221A.
- AJUYAH, A.O.; Hardin, R.T.; Sim, J.S. 1993. Effect of dietary full fat flax seed and without antioxidant on the fatty acid composition of major lipid classes of chicken meats. *Poult. Sci.*, 72, 125 - 136.
- AMINI, K.; Ruíz-Feria, C. A. 2007. Evaluation of pearl millet and flaxseed effects on egg production and n-3 fatty acid content. *British Poult. Sci.* 48 6: 661-668.
- ASGHAR, A.; Lin, C. F.; Gray, J.I.; Buckley, D. J.; Booren, A. M.; Flegal, C. J. 1990. Effects of dietary oils and α -tocopherol supplementation on membranous lipid oxidation in broiler meat. *J. Food Sci.*, 55 1: 46-50.
- AYERZA, R. (h). 2002. Chia as a New Source of Omega-3 Fatty Acids: Advantage Over Other Raw Materials to Produce Omega-3 Enriched Eggs. In: *Proceedings of the Symposium on Omega-3 Fatty Acids, Evolution and Human Health*, Washington D.C., USA,
- AYERZA, R. (h).; Coates, W. 1999. An omega-3 fatty acid enriched chia diet: its influence on egg fatty acid composition, cholesterol and oil content. *Can. J. Anim. Sci.*, 79: 53 - 58.
- AYERZA, R. (h).; Coates, W. 2000. Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition, for two strains of hens. *Poult. Sci.*, 78: 724 -739.

- AYERZA, R. (h).; Coates, W. 2001. The omega-3 enriched eggs: the influence of dietary linolenic fatty acid source combination on egg production and composition. *Can. J. Anim. Sci.*, 81, 355 - 362.
- AYERZA, R. (h).; Coates, W. 2002. Dietary levels of chia: influence on hen weight, egg production, and egg sensory quality. *Brit. Poult. Sci.*; 2: 283 - 290.
- AYERZA, R.; Coates, W.; Lauría, M. 2002. Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as an omega-3 Fatty Acid Source for Broilers: Influence on Fatty Acid Composition, Cholesterol and Fat Content of White and Dark Meats, Growth Performance, and Sensory Characteristics. *Poult. Sci.*, 81, 826 - 837.
- AYERZA, R. (h).; Coates, W. 2009. Some quality components in four chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes grown under tropical coastal desert ecosystem conditions. *Asian Journal of Plant Sci.* (In Press).
- AZCONA, J.; Schang, M.; Gallinger, C.; Antruejo, A.; Rosmini, M.; García, P. 2005. Producción de huevos y carne de pollo utilizando fuentes de ácidos grasos omega 3 de origen vegetal. En: *Memorias del 28º Congreso Argentino de Producción Animal*. Bahía Blanca, Bs. As. Argentina. www.aapa.org.ar
- AZCONA, J.O., Schang, M.J., Garcia, P.T., Gallinger, C., R. Ayerza (h), and Coates, W. 2008. Omega-3 enriched broiler meat: The influence of dietary alpha-linolenic omega-3 fatty acid sources on growth, performance and meat fatty acid composition. *Canadian Journal of Animal Science*, Ottawa, Ontario, Canada, 88:257-269.
- BATTERHAM, E.S., Andersen, L.M.; Baigent, D.R.; Green, A.G. 1991. Evaluation of meals from linola low-linolenic acid linseed and conventional linseed as protein sources for growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 35, 3-4: 181 - 190.
- BELL, J.M. 1989. Nutritional characteristics and protein uses of oilseed meals. In: *Oil crops of the world*, edited by G. Robbelen, R.K. Downey, and A. Ashri. McGraw-Hill Publishing Co., New York, USA, pp 192 - 207.

- BELL, J.M.; Keith, M.O. 1993. Nutritional evaluation of linseed meals from flax with yellow or brown hulls, using mice and pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 43, 1-2: 1-18.

- BEYNEN, A.C. 2004. Fatty acid composition of eggs produced by hens fed diets containing groundnut, soya bean or linseed. *Netherlands J. of Agric. Sci.*, 52 1: 3 -10.

- BÉZARD, J.; Blond, J. P.; Bernard, A.; Clouet, P. 1994. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Nutr. Dev*, 34: 539-568.

- BHATTY, R.S. 1993. Further compositional analyses of flax: mucilage, trypsin inhibitors and hydrocyanic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 9: 899 - 904.

- BILLEAUD, C.; Bouglé, D.; Sarda, P.; Combe, N.; Mazette, S.; Babin, F.; Entressangles, B.; Descomps, B.; Nouvelot, A.; Mendy, F. 1997. Effects of preterm infant formula supplementation with alpha-linoleic acid with a linoleate/alpha-linolenate ratio of 6:1: a multicentric study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51, 520 - 526.

- BLANCO, A. 1997. *Química Biológica*. 6^{ta} ed. El Ateneo. Bs. As. Argentina. ISBN 950-02-0335-9.

- BOND, J. M.; Julian, R.J.; Squires, E.J. 1997. Effect of dietary flaxseed on broiler growth, erythrocyte deformability and fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Can. J. Anim. Sci.*, 77, 279 - 286.

- BOURRE, JM.; Galea, F. 2006. An important source of omega-3 fatty acids, vitamins D and E, and selenium: a new natural multi-enriched egg. *J Nutr Health Aging*, 10 5: 371-376.

- BRENNAN, J.T. 2002. Efficiency of conversion of α -linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5, 127 - 132.

- BRENNER, R.R. 1974. The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. *Mol. Cell. Biochem*, 3: 41-52.

- BRISSON, G. J. 1986. Dietary fat and human health. En: *Recent Advances in Animal Nutrition* (Haresign, W.; Cole, D. J. A. eds), pp. 3 -24. Butterworths, Londres.

- BROWN, B. G.; Cheung, M. C.; Zhao, X. Q.; Chait, A.; Albers, J. J. 2001. Antioxidant supplements block the response of hdl to simvastatin-niacin therapy in patients with coronary artery disease and low hdl. *Arteriosc. Thromb Vasc Biol*, 21:1320 -1326.

- BRUINSMA, K.; Taren, D. 2000. Dieting essential fatty acids intake, and depression. *Nutrit. Rev.*; 58, 98 - 108.

- BUTCHER, G.; Miles, R. 2000. Ácidos Grasos Omega 3. *Ind. Avíc.*, 49, 3: 12 - 20.

- CAFAB. Cámara Argentina de Fabricantes de Alimentos Balanceados. 1997. Bs. As. AR, Memorias, CAFAB.

- CANDLISH, J.K.; Crook, M.A. 1992. *Clinical Biochemistry*. River Edge, N.J: World Scientific Publishing Co.

- CARRERO, J.J.; Martín-Bautista, E.; Baró, L.; Fonollá, J.; Jiménez, J.; Boza, J.J.; López-Huertas, E. 2005. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos mega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr. Hosp.*, 20, 1: 63 - 69.

- CASTELLÓ-LLOBET, J.A.; Lleonart-Roca, F.; Campo-Chavarri, J.L.; Orozco-Piñán, F. 1989. Biología de la Gallina. Barcelona: Tecnograf. ISBN 84-600-7249-5.

- CASTON, L.; Leeson, S. 1990. Research note: Dietary flaxseed and egg composition. Poult. Sci., 69, 1617 - 1620.

- CASTRO GONZÁLEZ, M.I. 2002. Ácidos grasos omega-3: beneficios y fuentes. INCI, 27, 3: 128 - 136.

- CHADHA, R. K.; Lawrence, J. F.; Ratanayake, W. M. N. 1995. Ion chromatographic determination of cyanide released from flaxseed under antohydrolysis conditions. Food Addit. Contam. 12: 527-533.

- CHERIAN, G.; Sim, J.S. 1991. Effect of feeding full fat flax and canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of eggs, embryos and newly hatched chicks. Poult. Sci. 70: 917 - 922.

- CHERIAN, G.; Sim, J. S. 1992. Preferential accumulation of n- 3 fatty acids in the brain of chicken from eggs enriched with n-3 fatty acids. Poult. Sci., 71, 1658 - 1668.

- CHERIAN, G.; Wolfe, F. W.; Sim, J. S. 1995. Dietary Oils with Added Tocopherols: Effects on Egg or Tissue Tocopherols, Fatty Acids, and Oxidative Stability. Poult. Sci. 75: 423 - 431.

- CHERIAN, G.; Wolfe, F. W.; Sim, J.S. 1996a. Dietary oils with added tocopherols: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. Poult. Sci., 75, 423 - 431.

- CHERIAN, G.; Wolfe, F.H.; Sim, J. S. 1996b. Feeding dietary oils with tocopherols: Effects on internal qualities of eggs during storage. *J. Food Sci.*, 61 1:15 -18.

- CHOWDHURY, S. R.; Chowdhury, S. D.; Smith, T. K. 2002. Effects of dietary garlic on cholesterol metabolism in laying hens. *Poult. Sci.* 81: 1856-62.

- CLANDININ, M.T.; Chappell, J.E.; Leong, S.; Heim, T.; Swyer, P.R.; Chance, G.W. 1980. Extrauterine fatty acid accretion in infant brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum. Dev.*, 4, 2: 131 - 138.

- CONNOR, W. E. 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71, 171S - 175S.

- COTTERILL, O.J.; Marion, W.W.; Naber, C. 1977. A nutrient re-evaluation of shell eggs. *Poult. Sci.* 56, 1927-1934.

- COUTTS, J. A.; Wilson, G. C. 1995. Manual práctico de calidad del huevo. Roche Vitaminas S.A. Madrid. ISBN 0-7242-3222-2.

- CRAIG-SCHMIDT, M. C., Faircloth, S. A.; Weete, J. D. 1987. Modulation of avian lung eicosanoids by dietary omega-3 fatty acids. *J. Nutr.* 117: 1197-1206.

- CRUICKSHANK, E.M. 1934. Studies in fat metabolism in the fowl. *Biochem. J.* 28, 965-2977.

- DAPP, software N-utrition® 2.0. 2003. Entre Ríos, Argentina.

- DE DECKERE, E.A.; Korver, O.; Verschuren, P.M.; Katan, M. B. 1998. Health aspects of fish and n-3 polyunsaturated fatty acids from plant and marine origin. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 52, 749 - 753.

- DELPLANAQUE, B.; Tavella, M.; Peterson, G. 2002. El aceite de girasol alto oleico y la prevención de la arterosclerosis. Dow Science Argentina y UNLP. 15 pp.

- DI MARINO, S. 2001. El Colesterol Dietario y el Colesterol Sanguíneo. *Capia Inf.*, 194, 27 - 29.

- ELKIN, R.G. 2007. Reducing shell egg cholesterol content. II. Review of approaches utilizing non-nutritive dietary factors or pharmacological agents and an examination of emerging strategies. *World's Poult. Sci. J.*, 63: 5-32.

- ENSER, M. 1984. The chemistry, biochemistry and nutritional importance of animal fats. In: Wiseman J (ed) *Fats in animal nutrition*. Butterworths, London, pp. 23-51.

- ESCRIBANO, F. Fisiología digestiva y metabolismo de las grasas e hidratos de carbono en gallinas ponedoras. En: (eds) de Blas, C.; Mateos, G.G. *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. Madrid: Ediciones Mundi-prensa - Aedos - MAPA. 1991. pp. 13-31. ISBN 84-7479-839-5. ISBN 84-7003-320-4, Aedos. ISBN 84-7114-315-1, Mundi-Prensa.

- ESMAIL, S.; Al-Kobra, A.M. 2000. New concepts of intestinal digestion and absorption in chickens. *World Poult.* 16, 2: 14-15.

- FAO/OMS. 2003. Report of a Joint Expert Consultation: Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series 916. FAO/ WHO, Ginebra.

- FARRELL DJ. 1998. Enrichment of hen eggs with n-3 long-chain fatty acids and evaluation of enriched eggs in humans. *Am J Clin Nutr* 68: 538-544.

- FEDNA, 2003. TABLAS FEDNA de la composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos. In: De Blas, J.C.; Mateos, G.G.; García, P.; (Eds.), Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España. 423 pp.

- FERRIER, L.K.; Caston, L.; Leeson, S.; Squires, E.J.; Celi, B.; Thomas, L.; Holub, B.J. 1992. Changes in serum lipids and platelet fatty acid composition following consumption of eggs enriched in alpha-linolenic acid (LnA). *Food Res. Intern.*, 25, 263 - 268.

- FERRIER, L.K.; Caston, L.; Leeson, S.; Squires, J.; Weaver, B.J.; Holub, B.J. 1995. α -linolenic acid and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62, 81 - 86.

- FISHER, H.; Leveille, G.A. 1957. Observations on the Cholesterol, Linoleic and Linolenic Acid Content of Eggs as Influenced by Dietary Fats. *J. Nutr.* 63, 119 -129.

- FLETCHER, D. L.; Britton, W. M.; Rahn, A. P.; Savage, S. I. 1981. The influence of layer flock age on egg component yields and solids content. *Poult. Sci.* 60, 983 - 987.

- FLETCHER, D. L.; Britton, W. M.; Pesti, G. M.; Rahn, A. P. 1983. The relationship of layer flock age and egg weight on egg component yields and solids content. *Poult. Sci.* 62, 1800 - 1805.

- FOLCH, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G.H.A. 1957. A simple methods for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497 - 507.

- FRASURE-SMITH, N.; Lespérance, F.; Julien, P. 2004. Major depression is associated with lower omega-3 fatty acid levels in patients with recent acute coronary syndromes. *Biolog. Psych.*, 55, 891 - 896.

- GARBER, D. W.; Henkin, Y.; Osterlund, L. C.; Darnell, B. E.; Segrest, J. P. 1992. Plasma lipoproteins in hyperlipidemic subjects eating iodine-enriched eggs. *J. Am. Coll. of Nutrition*. 11 3:294-303

- GARG, M.L., Sebokova, E., Wierzbicki, A., Thomson, A.; Clandini, M.T. 1988a. Different effects of dietary 18:2n-6 and 18:3n-3 acid on lipid metabolism in rat tissues. *Lipids* 23:847-851.

- GARG, M. L.; Thomson, A. B.; Clandinin, M. T. 1988b. Effects of dietary cholesterol and/or omega-3 fatty acids on lipid composition and Δ^5 -desaturase activity of rat liver microsomes. *J. Nutr.* 118:661–668.

- GRIFFIN, H.D. 1992. Manipulation of egg yolk cholesterol: A physiologist's view. *World's Poult. Sci. J.* 48, 101-112.

- GRIFFIN, H.D. 1993. En: *Proc. 5th European Symp. On the Quality of Eggs and Egg Products* Ed. Y. Nys. pp. 378-383. Tours. Francia.

- GROBAS, S.; Mateos, G. G. 1996. Influencia de la Nutrición Sobre la Composición Nutricional del Huevo. XII Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España. 25 pp.

- GRUNDY, S.M.; Vega, G.L.1988. Plasma cholesterol responsiveness to saturated fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, 822 - 824.

- GUARDIOLA IBARZ, F.; Codony, R.; Rafecas, M.; Boatella, J.; López, A. 1994. Fatty acid composition and nutritional value of fresh eggs, from large-and small- scale faros. *J. Food Compos. Anal.*, 39, 185 - 189.

- HARGIS, P. S. 1988. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. *World's Poult. Sci. J.* 44, 17-29

- HARGIS, P.S.; Van Elswyk, M.E. 1993. Manipulating the fatty acid composition of poultry meat and eggs for the health conscious consumer. *World's Poult. Sci. J.* 49, 251-264

- HAYEK, M.G.; Reinhart, G. A. 1998. Utilization of omega-3 fatty acids in companion animal nutrition; in *The Return of omega-3 Fatty Acids into the Food Supply*, Simopoulos AP, ed Basel Karger, 176-185.

- HEANEY, R. K.; Fenwick, G. R. 1995. Natural toxins and prospective factors in Brassica species, including rapeseed. *Nat. Toxins* 3: 23-27.

- HEPBURN, F.N.; Exler, J.; Weihrauch, J.L. 1986. Provisional tables on the content of omega-3 fatty acids and other fat components of selected foods. *J. Am. Diet Assoc.*, 86:788-93.

- HERBER-McNEILL, S.M.; Van Elswyk, M.E. 1996. Dietary marine algae promotes efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poult. Sci.*, 75, 1501 - 1507.

- HERMIER, D. 1994a. Modifications of the cholesterol and fatty acid content of egg: physiological and nutritional bases. *INRA Prod. Anim.* 7, 245-252.

- HERMIER, D. 1994b. En: *Proc. 5th European Symp. On the Quality of Eggs and Egg Products*. Ed. Y. Nys. pp. 384-390. Tours. Francia.

- HOMER, P.; Schaible, P.J. 1980. *Poultry: feeds and nutrition*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, USA.

- HU, F.; Manson, J.E.; Willett, W. 2001. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *J. Am.Clin. Nutr.*, 20, 5 - 19.

- HULSHOF, K.F.; Van Erp-Baart, M. A.; Anttolainen, M. 1999. Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on trans fatty acids: the Transfair Study. Eur. J. Clin. Nutr., 53, 143 - 157.

- HUNTON, P. 2002. Investigación se centra en huevos seguros y enriquecidos. Avic. Prof., 20, 8: 18 - 21.

- IGLESIAS, B. F.; Azcona, J.O.; Lago, C. 2007. Uso de cobre tribásico en la alimentación de aves. Memorias del XX Congreso Latinoamericano de Avicultura, Porto Alegre, Brasil. pp10 -12.

- INNIS, S.M.; Dyer, R. 1997. Dietary triacylglycerols with palmitic acid (16:0) in the 2-position increase 16:0 in the 2-position of plasma and chylomicron triacylglycerols, but reduce phospholipid arachidonic and docosahexaenoic acids, and alter cholesteryl ester metabolism in formula-fed piglets. J. Nutr., 127, 1311 - 1319.

- ISSFAL. 2004. Recomendaciones para la ingesta de ácidos grasos poli-insaturados en adultos sanos. www.issfal.org.uk

- ISTVAN, E. S.; Deisenhofer, J. 2001. Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase. Science. 292 5519:1160-1164

- JIANG Z.; Fenton M.; Sim J.S. 1991a. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. Poult. Sci., 70, 1015 - 1019.

- JIANG, Z.; Ahn, D. U.; Sim, J. S. 1991b. Effects of feeding flax and two types of sunflower seeds on fatty acid compositions of yolk lipid classes. Poult. Sci., 70, 2467 - 2475.

- JIANG, Y.H., Mc Geachin, R. B.; Bailey, C. A. 1994. Alpha tocopherol, beta carotene, and retinol enrichment of chicken eggs. Poult. Sci. 73, 1137-1143.

- KINSELLA, J.E.; Lokesh, B.; Stone, R.A. 1990. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanism. J. Food Sci., 52, 1 - 28.

- KNAPP, H.P. 1991. Effects dietary fatty acids on blood pressure: epidemiology and biochemistry. En: Health Effects of Dietary Fatty Acids. Nelson GJ, Eds. Am. Oil Chem. Soc., 94 -106.

- KRATZER, F. H.; Davis, P. N.; Williams, D. E.; Marshall, B. J. 1954. Factors Influencing the Growth of Chicks and Poults Fed Rations Containing Rapeseed Oil Meal. J. of Nutrition. 53(3):407-418

- KRAUSS, R.M.; Eckel, R.H.; Howard, B.; Appel, L.J.; Daniels, S.R.; Deckelbaum, R.J.; Erdman, J.W.; Kris-Etherton, P.; Goldberg, I.J.; Kotchen, T.A.; Lichtenstein, A.H.; Mitch, W.E.; Mullis, R.; Robinson, K.; Wylie-Rossett, J.; Jeor, S.S.; Suttie, J.; Tribble, D.L.; Bazzare, T.L. 2001. Revision 2000: Statement for healthcare professionals from the nutrition committee of American heart association. J. Nutr., 131, 132-146.

- KRIS-ETHERTON, P.M.; Harris, W. S.; Appel, L.J. 2003. AHA Nutrition Committee American Heart Association: Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. Arteriosc. Thromb. Vasc. Biol., 23, 151 - 152.

- KUNG, T. K.; Kummerow, F. A. 1950. The deposition of linolenic acid in chickens fed linseed oil. Poult. Sci., 29, 846 - 851.

- LANSER, A.C.; Emken, E.A. 1987. Comparative Deposition of trans-10 and cis-9 Octadecenoates in Egg and Tissue Lipids of the Laying Hen. J. Agric. Food Chem. 35, 248-252.

- LANSER, A.C., Mounts, T. L.; Emken, E. A. 1978. Metabolism of linoleate versus Imoclaideate in the laying hen. *Lipids* 13, 103-109.

- LAURITZEN, L.; Hansen, H.S.; Jorgensen, M.H.; Michaelson, K.F. 2001. The essentiality of long Chain n-3 fatty acids in relation to development function of the brain and retina. *Progress in Lipid Res.*, 40, 1 - 94.

- LEE, K. H.; Olomu, J. M.; Sim, J.S. 1991. Live performance, carcass yield, protein, and energy retention of broiler chickens fed canola and flax full-fat seeds and the restored mixtures of meal and oil. *Can. J. Anim. Sci.*, 71, 897 - 903.

- LEE, K. H.; Qi, G. H.; Sim, J. S. 1995. Metabolizable energy and amino acid availability of full-fat seeds, meals, and oils of flax and canola. *Poult. Sci.* 74:1341-1348.

- LESSIRE, M.; Doreau, M.; Aumaitre, A. 1996. Digestive and metabolic utilization of fats in domestic animals. In *Oils and fats manual*, edited by A. Karleskind. Lavoisier Publishing, Paris, France. pp. 703 – 714.

- LEWIS, C. E.; McGee, J. O. 1992. Natural killer cells in tumor biology. Pages 175 - 203, in *The natural killer cells* edited by Lewis, C.E. and J.O. McGee. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.

- LI, D.; Sinclair, A.; Wilson, A.; Nokkote, S.; Kelly, F.; Abedin, L.; Mann, N.; Turner, A. 1999. Effect of dietary α -linolenic acid on thrombotic risk factors in vegetarian men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69, 872 - 882.

- LICHOVNIKOVA, M.; Zeman, L.; Jandasek, J. 2008. The effect of feeding untreated rapeseed and iodine supplement on egg quality. *Czech J. Anim. Sci.*, 53: 77-82

- LÓPEZ - FERRER, S.; Baucells, M.D.; Barroeta, A.C.; Grashorn, M.A. 1999. N-3 enrichment of chicken meat using fish oil: alternative substitution with rapeseed and linseed oils. *Poult. Sci.*, 78, 356 - 365.

- MAMALAKIS, G.; Kiriakakis, M.; Tsibinos, G.; Kafatos, A. 2004. Depression and adipose polyunsaturated fatty acids in the survivors of the Seven Countries Study population of Crete. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 70, 6: 495 - 501.

- MADHUSUDHAN, K.T.; Ramesh, H.P.; Ogawa, T.; Sasaoka, K.; Singh, N. 1986. Detoxification of commercial linseed meal for use in broiler rations. *Poult. Sci.*, 65, 164 - 171.

- MARSHALL, A. C., Sams, A. R. y Van Elswyk, M. E. 1994. Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1,5% menhaden oil. *J. Food Sci.* 59 3: 561-563.

- MASON, V.C.; Bech Andersen, S.; Rudemo, M. 1980. Hydrolysate preparation for amino acid determination in feed constituents. 8. Studies of oxidation condition for stream lined procedures. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 43:146 - 164.

- MATEOS, G. G. 1991. En: *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. En: (eds) de Blas, C.; Mateos, G.G. *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. Madrid: Ediciones Mundi-prensa - Aedos - MAPA. 1991. pp.226-263.

- MAYER, E.L.; Jacobse, D.W.; Robinson, K. 1996. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 27: 517-527.

- MAYES, P. 1997. Metabolismo de los ácidos grasos insaturados y de eicosanoides. En: Blanco, A. *Química Biológica*. 6^{ta} ed. El Ateneo. Bs. As. Argentina. ISBN 950-02-0335-9.

- MAZZA, G.; Oomah, B.D. 1995. Flaxseed, dietary fiber, and cyanogens. In: *Flaxseed in Human Nutrition*, edited by S.C. Cunnane and L.U. Thompson. Am. Oil Chem. Soc. Press, Champaign, USA., pp 56 – 81.

- MEHTA, J.; Saldeen, T.; Rand, K. 1998. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. J. Am. Coll. Cardiol., 6, 1217 - 1225.

- MILES, R. D. 1999. Formulación de alimentos para ponedoras para el futuro. Ind. Avíc., 46, 7: 37 - 43.

- MILES, R. D.; O'Keefe, S. F.; Henry, P.R.; Ammerman, C.B.; Luo, X. G. 1998. The effect of dietary supplementation with copper sulphate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. Poult. Sci., 77: 416 - 425.

- MINE, Y.; Kovacs-Nolan, J. 2004. Recent advances in eggs protein functionality in the food system. World's Poult. Sci. J., 58, 31 - 39.

- MORAN, E.T. (Jr). 1996. Fat modification of animal products for human consumption. Anim. Feed Sci. and Technol. 58, 1: 91-99.

- MORGAN, R. 1993. Plasma cholesterol and depressive symptoms in older men. Lancet, 341, 75 - 79.

- MUELLER, C. D.; Scout, H.M. 1940. The porosity of the egg-shell in relation to hatchability. Poult. Sci., 19: 163 - 166.

- MURTY, N.L; Reiser, R. 1961. Influence of Graded Levels of Dietary Linoleic and Linolenic Acids on the Fatty Acid Composition of Hens' Eggs. J. Nutr. 75, 287-294.

- NABER, E.C. 1979. The effect of nutrition on the composition of eggs. Poult. Sci. 58, 518-528.

- NABER, E.C. 1993. Nutrient and drug effects on cholesterol metabolism in the laying hen. *Poult. Sci.* 55, 14-30.

- NABER, E.C.; Biggert, M. 1989. Pattern of lipogenesis in laying hens fed a high fat diet containing safflower oil. *J. Nutr.* 119, 690-695.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1984. Nutrient requirements of Poultry. 8th. Ed. National Academy Press, Washington, D.C.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1994. Nutrient requirements of poultry. National Academy Press, Ninth Revised Edition Washington, D.C., 155 p.

- NELSON, D.L.; Cox, M.M.; 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York: Worth Publishers. ISBN 1572591536.

- NEMETS, B.; Stahl, Z.; Belmaker, R.H. 2002. Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. *Am. J. Psych.*, 159, 3: 477 - 479.

- NIMPF, I.; Schneider, W.J. 1991. Receptor-mediated lipoprotein transport in the laying hen. *J. Nutr.* 121, 1471-1474.

- NOBLE, R. C., Cocchi, M. 1990. Development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *Brit. Poult. Sci.* 32: 515 - 523.

- NORTH, M. O. 1993. *Manual de Producción Avícola*. 3^{era} ed. México D.F: Manual Moderno. ISBN 968-426-611-1.

- NOVAK, C.; Scheideler, S. 1998. The effect of calcium and/or vitamin D, supplementation of flax based diets on production parameters and egg composition. *Univ. Nebraska Coop. Ext. MP 70*, Lincoln, USA.

- OH, S. Y., Ryue, J.; Hsieh, C. H.; Bell, D. E. 1991. Eggs enriched with ω -3 fatty acids and alterations in lipid concentrations in plasma and lipoproteins and in blood pressure. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54, 689 - 695.

- OOMAH, B.D.; Mazza, G.; Kenaschuk, E. O. 1992. Cyanogenic compounds in flaxseed. *J. Agric. Food Chem.* 40:1346 -1348.

- OHTAKE, Y.; Hoshino, Y. 1976. Influences of dietary fat and oil on the fatty acid distribution in egg yolk lipids of laying hens. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 47: 430 - 440.

- PANKEY, R.D.; Stadelman, W.J. 1969. Effect of dietary fats on some chemical and functional properties of eggs. *J. Food. Sci.* 34, 312-317.

- PASS, E.; Pierce, G. 2002. Canola Oil. National Centre for Agri-Food Research in Medicine. St. Boniface General Hospital Research. Winnipeg, Manitoba, Canada. Pp 1-18.

- PEET, S.; Shah, S.; Selvam, K.; Ramchand, C.N. 2004. Polyunsaturated fatty acid levels in red cell membranes of unmedicated schizophrenic patients. *World J. Biol. Psych.*, 5, 92 – 99.

- PESTI, G. M.; Bakalli, R.I. 1996. Studies on the feeding of cupric sulfate pentahydrate and cupric citrate to broiler chickens. *Poult. Sci.*, 75, 1086 -1091.

- PESTI, G.M.; Bakalli, R. I. 1998. Studies on the effect of feeding cupric sulphate pentahydrate to laying hens on egg cholesterol content. *Poult. Sci.*, 77, 1540 - 1545.

- PESTI, G.M.; Bakalli, R.I.; Ragland, W.L.; Konjufca, V. 1995. Dietary cooper in excess of nutritional requeriment reduces plasma and breast muscle cholesterol of chickens. *Poult. Sci.*, 74, 2: 360 - 365.

- PETERSON, G.; Aguilar, D.; Espeche, M.; Mesa, M.; Jáuregui, P.; Díaz, H.; Simi, M.; Tavella, M. 2004. Ácidos graso trans en alimentos consumidos habitualmente por los jóvenes en Argentina. Arch. Arg. Pediat., 102, 2: 102 - 109.

- PINCHASOV, Y.; Nir, I. 1992. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids concentration on performance, fat deposition and carcass fatty acids composition in broiler chickens. Poult. Sci., 71, 1504 - 1512.

- PORSGAARD, T.; Høy, C.E. 2000. Lymphatic transport in rats of several dietary fats differing in fatty acid profile and triacylglycerol structure. J. Nutr., 130, 1619 - 1624.

- PURI, B.K.; Counsell, S.J.; Hamilton, G., Richardson, A.J.; Horrobin, D.F. 2001. Eicosapentaenoic acid treatment in treatment-resistant depression associated with symptom remission, structural brain changes and reduced neuronal phospholipid turnover. Int. J. Clin. Prac., 55, 560 - 563.

- REYES-CAUDILLO, E.; Tecante, A.; Valdivia-López, M. A. 2008. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. Food Chem. 107:656 – 663.

- ROZOWSKI NARKUNSKA, J. 2007. ¿Grasa buenas y grasas malas? Curso Desafíos y Oportunidades en Gastroenterología y Nutrición (V). Medwave, edición de octubre.

- SANDERS, T.A. 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. Am. J. Clin. Nutr., 71, 176S - 180S.

- SANTOMA, G. 1992. En: Curso de especialización: nutrición y manejo. Calidad de los productos ganaderos. FEDNA. Madrid.

- SAUVEUR, B. 1988. Reproduction des volailles et production d'oeufs. Institut National de la Recherche Agronomique. París. ISBN 2-85340-961-9.

- SAUVEUR, B., Antoine, H.; Ricard, F. 1993. En: Proc. 5th European Symp. On the Quality of Eggs and Egg Products. Ed. Y. Nys. pp. 391-396. Tours. Francia.

- SELL, J.L., Choo, S. H.; Kondra, P. A. 1968. Fatty acid composition of egg yolk and adipose tissue as influenced by dietary fat and strain of hen. Poult. Sci. 47, 1296-1302.

- SHAVER BROWN. 2005. Guía de manejo de ponedoras, 26p. www.isapoultry.com.

- SHENSTONE, F. S. 1968. En: Egg quality a study of the hen's egg. Ed. Carter-Oliver-Boyd. Edimburgo, pp 27-64.

- SCHMIDT, E. B.; Christensen, J. H.; Aardestrup, I.; Madsen, T.; Riahi, S.; Hansen, V. E.; Skou, H. A. 2001. Marine n-3 fatty acids: basic features and background. Lipid, 36, 65S - 68S.

- SIBBALD, I.R. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feeding-stuffs. Poult. Sci., 55, 303 - 308.

- SILVEIRA RODRÍGUEZ, M.B.; Monereo Megías, M.; Molina Baena, B. 2003. Alimentos Funcionales y Nutrición Óptima. ¿Cerca o Lejos? Esp. Salud Públ., 77, 3: 317 - 331.

- SIM, J.S.; Bragg, D. B. 1978. Effect of dietary oil, cholesterol, and soysterols on the lipid concentration and fatty acid composition of egg yolk, liver and serum of laying hens. Poult. Sci. 57, 466-472.

- SIM, J. S.; Qi, G. H. 1995. Designing poultry products using flaxseed. Pages 315-333 *in* S. C. Cunnane and L.U. Thompson ed. Flaxseed in Human Nutrition. AOCS Press, Champaign, IL, USA.

- SIM, J. S.; Jaroni, D. J.; Froning, G. 1995. Effects of dietary alpha-linolenic acid and strain of hen on the fatty acid composition, storage stability and flavour characteristics of chicken egg. *Poult. Sci.*, 74, 1540 - 1547.

- SIMOPOULOS, A.P. 1999a. New products from the agri-food industry: The return of n-3 fatty acids into the food supply. *Lipid.*, 34, 297 - 301.

- SIMOPOULOS, A. P. 1999b. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 70, 560S - 569S.

- SIMOPOULOS, A. P. 2000. Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with N-3 PUFA: Human requirements for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poult. Sci.*, 79, 961 - 970.

- SIMOPOULOS, A. P. 2001. Evolutionary Aspects of Diet and Essential Fatty Acids. *World Nutr. Diet. Basel*, Karger, 88, 18 - 27.

- SIMOPOULOS, A. P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/ omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacoth.*, 56, 365 - 379.

- SIMOPOULOS, A. P. 2004. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev. Int.* 1:87- 90.

- SIMOPOULOS, A. P. 2008. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr*, 17 S1:131-134.

- SIMOPOULOS, A. P.; Salem, N, (Jr). 1992. Egg yolk as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant feeding. *Am J Clin Nutr*, 55: 411- 414.

- SISCOVICK, D.S.; Raghunathan, T.E.; King, I.; Weinman, S. 1996. Dietary intake and cell membrane levels of chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *J. Am. Med. Assoc.*, 274, 1363 - 1367.

- SONG, J.H.; Fujimoto, K.; Miyazawa, T. 2000. Polyunsaturated (n-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils. *J. Nutr.*, 130, 3028 - 3033.

- SPRECHER, H. 1981. Biochemistry of essential fatty acids. *Prog. Lip. Res.*, 20: 13-24.

- SQUIRES, M.W.; Naber, E.C. 1992. Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: a min biz study. *Poult. Sci.* 71, 2075-2082.

- SQUIRES, M.W.; Naber, E.C. 1993. Vitamine profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: diet to egg transfer and commercial flock survey. *Poult. Sci.* 72, 483-484.

- STADELMAN, W. J., Pratt, D. E. 1989. Factors influencing composition of hen's egg. *World's Poult. Scie. J.* 45: 247-266.

- STEINBERG, D.; Parthasaraty, S.; Carew, T.E.; Khoo, J.C.; Witzum, J.L. 1989. Beyond cholesterol modifications of lipoprotein of low density that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.*, 320, 915 - 924.

- STRAARUP, E.M.; Høy, C.E. 2000. Structured lipids improve fat absorption in normal and malabsorbing rats. *J. Nutr.*, 130, 2802 - 2808.

- SU, K. P.; Huang, S. Y.; Chiu, C. C.; Shen, W. W. 2003. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Eur Neuropsychopharmacol*; 13 4: 267-71.

- SUMMERS, J.D., Slinger, S. J.; Anderson, W.J. 1966. The effect of feeding various fats and fatby-products on the fatty acids and cholesterol composition of egg. Br. Poult. Sci. 7, 127-134.

- TAGA, M. S.; Miller, E. E.; Pratt, D. E. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 61: 928 - 931.

- TAPIA, A 2004. Ácidos grasos omega-3 para la prevención y tratamiento de las depresiones en el embarazo y post parto. Chil. Obstet. Ginecol., 69, 5: 399 - 403.

- TOUG, J.C.; Chen, J.; Thompson, L.U. 1999. Dose, timing, and duration of flaxseed expopure affect reproductive indices and sex hormone levels in rats. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 56 8: 555 - 570.

- TRAUTWEIN, E.A. 2001. N-3 fatty acids-physiological and technical aspects for their use in food. Eur. J. Lipid. Sci. Technol., 103, 45 - 55.

- TREVIÑO, J.; Rodríguez, M.L.; Ortíz, L.T.; Rebole, A.; Alzuela, C. 2000. Protein quality of linseed for growing broiler chicks. Anim. Food Sci. Techn., 84,155 - 166.

- VALENZUELA, A. 2002. Natural antioxidants: from food safety to health benefits. Biotechnol. Food Ind., 18, 323 - 332.

- VALENZUELA, A.; Garrido, A. 2000. Los fitosteroles: agentes hipocolesterolémicos naturales de origen no farma cológico. Rev Chil Nutr., 27, 220 - 225.

- VALENZUELA, A.; Nieto, M.S. 2001. Docosahexaenoic acid (DHA) in fetal development and in infant nutrition. Méd. Chil., 129, 10: 1203 - 1211.

- VALENZUELA, A.; Sanhueza, J.C.; Nieto, M.S. 2002. Oxidos del colesterol (oxisteroles): factores que condicionan su formación, efectos biológicos, y su presencia en los alimentos. Chil. Nutr., 29, 2: 78 - 85.

- VALETTI, O. 1996. El Cultivo de Colza-Canola. INTA-Chacra Experimental Integrada Barrow. Material de divulgación nº 2: 5 -17.
- VANDERVEEN, E.E.; Grekin, R.C.; Swanson, N.A.; Kragballe, K.; 1986. Arachidonic acid metabolites in cutaneous carcinomas. Arch. Dermatol., 122, 407 - 412.
- VETTER, J. 2000. Plant cyanogenetic glycosides. Toxicon., 38, 11 - 36.
- VAN ELSWYK, M.E., Schake, L.S.; Hargis, B. M.; Hargis, P.S. 1991. Evaluation of two extraction methods for the determination of egg yolk cholesterol. Poult. Sci. 70 1: 122.
- WASHBURN, K. W. 1982. Incidence, cause and prevention of eggshell breakage in commercial production. Poult. Sci. 61: 2005-2012.
- WATKINS, B.A. 1991. Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry. J. Nutr. 121, 1475-1485.
- WHITEHEAD, C.C. 1984. En: Fats in animal nutrition. Ed Wiseman, J. pp. 153-166. Butterworths. Londres.
- WHITEHEAD, C.C. 1995. Plasma oestrogen and the regulation of egg weight in laying hens by dietary fats. Anim. Feed Sci and Technol. 53, 91-98.
- YÉPEZ, R.F. 2004. Bioquímica Médica. Quito: Arco Iris Producciones Gráficas.
- YEHUDA, S.; Rabinovitz, S.; Mostofsky , D. I. 1999. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. J. Neurosci. Res., 56, 565 - 570.

11- ANEXO

Tabla I. Perfil nutricional de las semillas de lino, colza, chía y expeller de chía

	Semilla de lino	Semilla de colza	Semilla de chía	Expeller de chía
MATERIA SECA (%)	93,7	92,5	91,2	91,5
PROTEÍNA (%)	21,46	22,75	19,92	25,0
AMINOÁCIDOS				
TOTALES				
METIONINA (%)	0,40	0,40	0,61	0,79
MET+CIS (%)	0,79	0,88	1,05	1,37
LISINA (%)	0,83	1,26	0,93	1,20
TREONINA (%)	0,79	0,97	0,70	0,90
TRIPTOFANO (%)	0,35	0,31	0,27	0,35
ARGININA (%)	2,01	1,51	2,02	2,61
ISOLEUCINA (%)	0,84	0,96	0,72	0,93
LEUCINA (%)	1,24	1,62	1,30	1,68
VALINA (%)	1,04	1,25	0,93	1,20
HISTIDINA (%)	0,47	0,60	0,53	0,68
FENILALANINA (%)	1,00	0,97	0,97	1,25
GLICINA (%)	1,26	1,19	0,98	1,26
SERINA (%)	0,98	0,92	1,07	1,38
ALANINA (%)	0,95	1,06	0,98	1,26
Ác. ASPARTICO (%)	1,95	1,84	1,64	2,12
Ác. GLUTAMICO (%)	4,07	3,66	3,36	4,33
AMINOÁCIDOS				
DIGESTIBLES				
MET+CIS D (%)	0,42	0,74	0,56	0,72
LISINA D (%)	0,46	1,01	0,52	0,67
TREONINA D (%)	0,43	0,78	0,39	0,50
VALINA D (%)	0,62	1,04	0,56	0,72
ISOLEUCINA D (%)	0,45	0,81	0,39	0,50
ARGININA D (%)	1,12	1,26	1,12	1,45
TRIPTOFANO D (%)	0,20	0,26	0,15	0,20
EB (cal/g)	6121	5999	5703	5060
EMV (cal/g) ¹	4077	4341	3786	3041
EMV / EB (%)	66,6	72,4	66,4	60,1
LÍPIDOS (%)	34,97	34,14	28,27	18,2
FIBRA BRUTA (%)	21,82	33,52	35,12	29,4
ÁCIDOS GRASOS				
14: 0 (%) ²	0,04	0,04	0,03	0,02
16: 0 (%)	3,02	2,54	2,80	1,75
16: 1 (%)	0,04	0,13	0,04	0,03
18: 0 (%)	2,10	0,88	0,92	0,45
18: 1 (%)	7,55	21,39	2,25	1,29
18: 2 (%)	5,60	8,26	5,92	4,11
18: 3 (%)	19,32	3,88	18,58	12,19
18: 2 / 18 : 3	0,29	2,13	0,32	0,34
AGS (%)	5,16	3,47	3,75	2,22
AGMI (%)	7,59	21,52	2,29	1,31
AGPI (%)	24,92	12,13	24,50	16,30

¹ Energía Metabolizable Verdadera.

² Porcentaje total de lípidos.

Tabla II. Ingredientes y composición nutricional calculada para las dietas de gallinas en el período 1

Materias primas (%)	T1 semilla lino	T2 semilla colza	T3 semilla chía	T4 expeller chía	T5 aceite lino	T6 aceite chía	T7 aceite RCR	T8 aceite AGAO	T9 aceite soja	T10 cobre tribásico
MAIZ	41,026	23,967	35,181	38,227	42,424	42,424	42,424	47,408	47,409	47,409
HARINA DE SOJA 40	27,158	17,611	19,054	8,139	18,559	18,559	18,559	13,291	13,291	13,291
HARINA DE GIRASOL	0,940	5,000	5,000		18,267	18,267	18,267	5,000	5,000	5,000
AFRECHILLO DE TRIGO		13,000								
POROTO SOJA DESACTIVADO				12,779				18,236	18,236	18,236
HARINA DE CARNE 45	5,093	4,721	4,998	5,031	5,407	5,407	5,407	5,245	5,245	5,245
ACEITE DE SOJA									1,500	1,500
ACEITE AGAO ¹	1,500	1,500	1,500	1,500				1,500		
CONCHILLA	8,619	8,579	8,381	8,372	8,550	8,550	8,550	8,642	8,642	8,642
SAL	0,282	0,307	0,308	0,308	0,298	0,298	0,298	0,307	0,307	0,307
PREMIX ²	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
LISINA			0,145	0,160	0,157	0,157	0,157			
METIONINA	0,162	0,095	0,148	0,166	0,112	0,112	0,112	0,151	0,151	0,151
TREONINA			0,067	0,098	0,006	0,006	0,006			
ANTIOXIDANTE	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
COLINA	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
SEMILLA DE LINO	15,000									
SEMILLA DE COLZA		25,000								
SEMILLA DE CHÍA			25,000							
EXPELLER CHÍA				25,000						
ACEITE LINO					6,000					
ACEITE CHÍA						6,000				
ACEITE RCR							6,000			
COBRE TRIBÁSICO										0,025
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Nutrientes (calculados)										
EMV ³ (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
PROTEINA (%)	20,20	19,80	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50
MET + CIS D ⁴ (%)	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703
LISINA Digestible (%)	0,904	0,919	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904
TREONINA Digestible (%)	0,636	0,674	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641
VALINA Digestible (%)	0,859	0,923	0,793	0,775	0,889	0,889	0,889	0,904	0,904	0,904
ISOLEUCINA Digestible (%)	0,740	0,759	0,660	0,619	0,759	0,759	0,759	0,765	0,765	0,765
ARGININA Digestible (%)	1,302	1,326	1,247	1,179	1,328	1,328	1,328	1,268	1,268	1,268
TRIPTOFANO Digestible (%)	0,203	0,215	0,179	0,176	0,188	0,188	0,188	0,198	0,198	0,198

Tabla II (continuación) Ingredientes y composición nutricional calculada para las dietas de gallinas en el período 1

Ácidos grasos
(% Calculados)

14:0 ⁵	0,029	0,031	0,03	0,028	0,028	0,028	0,244	0,024	0,022	0,022
16:0	0,945	0,983	1,140	1,146	1,037	0,947	1,973	0,902	1,066	1,066
16:1	0,029	0,052	0,032	0,036	0,030	0,028	0,400	0,034	0,036	0,036
18:0	0,567	0,435	0,469	0,440	0,555	0,375	0,513	0,392	0,407	0,407
18:1	3,395	7,309	2,718	3,111	2,308	1,371	2,844	3,239	2,315	2,315
18:2	2,160	3,150	2,632	3,322	3,000	2,532	1,877	3,091	3,781	3,781
18:3	2,983	1,033	4,720	3,286	2,072	3,773	1,198	0,324	0,432	0,432
18:2 / 18:3	0,7	3,0	0,6	1,0	1,4	0,7	1,6	9,5	8,8	8,8
SATURADOS	1,5	1,4	1,6	1,6	1,6	1,4	2,7	1,3	1,5	1,5
MONOINSATURADOS	3,4	7,4	2,8	3,1	2,3	1,4	3,2	3,3	2,4	2,4
POLINSATURADOS	5,1	4,2	7,4	6,6	5,1	6,3	3,1	3,4	4,2	4,2
LÍPIDOS TOTALES	9,6	12,5	11,0	10,6	9,0	9,0	9,0	7,6	7,6	7,6

¹ Aceite de girasol alto oleico; ² Vitamina A: 6.000.000 UI /Kg; Vitamina D3: 1.866.666 UI/Kg; Vitamina E: 10.000 UI/Kg; Tiamina: 1.000 mg/Kg; Riboflavina: 3.000 mg/Kg; Piridoxina: 1.000 mg/Kg; Ácido Pantoténico: 5.333 mg/Kg; Niacina: 15.000 mg/Kg; Ácido Fólico: 333 mg/Kg; Cianocobalamina: 7 mg/Kg; Menadiona: 1.330 mg/Kg; Colina: 60.000 mg/Kg; Selenio: 150 mg/Kg; Yodo: 500 mg/Kg; Cobre: 4.000 mg/Kg; Zinc: 35.000 mg/Kg; Manganeso: 40.000 mg/Kg; Hierro: 25.000 mg/Kg; Excipientes csp: 1 KG;

³ Energía Metabolizable Verdadera; ⁴ Aminoácidos Digestibles; ⁵ Porcentaje de lípidos totales.

Tabla III. Ingredientes y composición nutricional de las dietas de gallinas en los períodos 2 y 3

Materias primas (%)	T1 semilla lino	T2 semilla colza	T3 semilla chía	T4 expeller chía	T5 aceite lino	T6 aceite chía	T7 aceite RCR	T8 aceite AGAO	T9 aceite soja	T10 cobre tribásico
MAIZ	42,792	31,519	35,150	46,751	45,062	45,062	45,062	50,405	50,405	50,405
HARINA DE SOJA 40	19,890	4,092	18,387	10,884	13,636	13,636	13,636	8,399	8,399	8,399
HARINA DE GIRASOL		17,593			19,615	19,615	19,615	6,309	6,309	6,309
AFRECHILLO DE TRIGO	10,000	10,000	10,000		5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
POROTO SOJA DESACTIV.	0,419			5,554				17,864	17,864	17,864
HARINA DE CARNE 45	0,738	0,91	0,483	0,828	1,146	1,146	1,146	0,988	0,988	0,988
HARINA DE HUESO	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200
ACEITE DE SOJA									1,500	1,500
ACEITE AGAO ¹	1,500	1,500	1,500	1,500				1,500		
CONCHILLA	7,693	7,464	7,492	7,399	7,578	7,578	7,578	7,671	7,671	7,671
SAL	0,318	0,323	0,349	0,339	0,330	0,330	0,330	0,339	0,339	0,339
PREMIX ²	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
LISINA	0,049	0,149	0,053	0,127	0,149	0,149	0,149			
METIONINA	0,143	0,030	0,112	0,115	0,064	0,064	0,064	0,105	0,105	0,105
TREONINA	0,038		0,054	0,083						
ANTIOXIDANTE	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
COLINA	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
SEMILLA DE LINO	15,000									
SEMILLA DE COLZA		25,000								
SEMILLA DE CHÍA			25,000							
EXPELLER CHÍA				25,000						
ACEITE LINO					6					
ACEITE CHÍA						6				
ACEITE RCR							6			
COBRE TRIBÁSICO										0,025
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100,025
Nutrientes (calculados)										
EMV ³ (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
PROTEINA (%)	20,20	19,80	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	19,5	19,5
MET + CIS Digestible ⁴ (%)	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703	0,703
LISINA Digestible (%)	0,904	0,919	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904	0,904
TREONINA Digestible (%)	0,636	0,674	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641	0,641
VALINA Digestible (%)	0,859	0,923	0,793	0,775	0,889	0,889	0,889	0,904	0,904	0,904
ISOLEUCINA Digestible (%)	0,740	0,759	0,660	0,619	0,759	0,759	0,759	0,765	0,765	0,765
ARGININA Digestible (%)	1,302	1,326	1,247	1,179	1,328	1,328	1,328	1,268	1,268	1,268
TRIPTOFANO Digestible (%)	0,203	0,215	0,179	0,176	0,188	0,188	0,188	0,198	0,198	0,198

Tabla III (continuación)

Ingredientes y composición nutricional de las dietas de gallinas en los períodos 2 y 3

Ácidos grasos
(% Calculados)

14:0 ⁵	0,029	0,031	0,03	0,028	0,028	0,028	0,244	0,024	0,022	0,022
16:0	0,945	0,983	1,140	1,146	1,037	0,947	1,973	0,902	1,066	1,066
16:1	0,029	0,052	0,032	0,036	0,030	0,028	0,400	0,034	0,036	0,036
18:0	0,567	0,435	0,469	0,440	0,555	0,375	0,513	0,392	0,407	0,407
18:1	3,395	7,309	2,718	3,111	2,308	1,371	2,844	3,239	2,315	2,315
18:2	2,160	3,150	2,632	3,322	3,000	2,532	1,877	3,091	3,781	3,781
18:3	2,983	1,033	4,720	3,286	2,072	3,773	1,198	0,324	0,432	0,432
18:2 / 18:3	0,7	3,0	0,6	1,0	1,4	0,7	1,6	9,5	8,8	8,8
SATURADOS	1,5	1,4	1,6	1,6	1,6	1,4	2,7	1,3	1,5	1,5
MONOINSATURADOS	3,4	7,4	2,8	3,1	2,3	1,4	3,2	3,3	2,4	2,4
POLINSATURADOS	5,1	4,2	7,4	6,6	5,1	6,3	3,1	3,4	4,2	4,2
LIPIDOS TOTALES	9,6	12,5	11,0	10,6	9,0	9,0	9,0	7,6	7,6	7,6

¹ Aceite de girasol alto oleico; ² Vitamina A: 6.000.000 UI /Kg; Vitamina D3: 1.866.666 UI/Kg; Vitamina E: 10.000 UI/Kg; Tiamina: 1.000 mg/Kg; Riboflavina: 3.000 mg/Kg; Piridoxina: 1.000 mg/Kg; Ácido Pantoténico: 5.333 mg/Kg; Niacina: 15.000 mg/Kg; Ácido Fólico: 333 mg/Kg; Cianocobalamina: 7 mg/Kg; Menadiona: 1.330 mg/Kg; Colina: 60.000 mg/Kg; Selenio: 150 mg/Kg; Yodo: 500 mg/Kg; Cobre: 4.000 mg/Kg; Zinc: 35.000 mg/Kg; Manganeseo: 40.000 mg/Kg; Hierro: 25.000 mg/Kg; Excipientes csp: 1 KG; ³ Energía Metabolizable Verdadera; ⁴ Aminoácidos Digestibles; ⁵ Porcentaje de lípidos totales.

12- AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

- A mi Director Dr. Marcelo Rosmini, Profesor de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral y actual Secretario de Ciencia y Técnica de la Universidad Católica de Córdoba, por su apoyo incondicional, asesoramiento, inestimables consejos, tiempo, paciencia y responsabilidad absoluta en la conducción y elaboración de esta Tesis.
- A mi Co-Director DEA Ing. Agr. Jorge Azcona, Jefe de la Sección Avicultura de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Pergamino Bs. As. (INTA), por sus enseñanzas, instrucciones, discusiones científicas mantenidas a lo largo de estos años, su tiempo, paciencia ilimitada y responsabilidad en la co-conducción y elaboración de esta Tesis.
- A mi Co-Director Mg. Ing. Agr. Marcelo Schang, Sección Avicultura del INTA Pergamino y actual Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Católica Argentina (Bs.As.), por su inmediata respuesta a mi inclusión como parte de su proyecto y equipo de trabajo, brindándome además las instalaciones e insumos del INTA para la concreción de esta Tesis.
- A la Ing. Zoot. Viviana Cherrière; al Méd. Vet. Bernardo Iglesias; al Téc. Agr. Omar Sceglio, todos técnicos de la Sección Avicultura del INTA Pergamino, por su inestimable colaboración en esta Tesis.
- A la Dra. Pilar García, Directora del Instituto de Tecnología de los Alimentos del INTA Castelar, por su trascendental participación en esta Tesis.
- A la Estadística Gloria Cignacco, Profesora Adjunta de la Cátedra de Bioestadística de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad

Nacional de Rosario, por su asesoramiento técnico e inestimable colaboración en la elaboración de esta Tesis.

- Al Méd. Vet. Carlos Pagni, Profesor de Inglés de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, por su colaboración en la interpretación del texto científico utilizado en esta Tesis.
- A la Sra. Graciela Gallonetto de Pacilio, Directora de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, por su colaboración en la búsqueda y corrección bibliográfica de esta Tesis.
- A la Sra. Silvia Rodil, del Centro de Información y Documentación Científica (CIDOC) de la Universidad Nacional de Rosario, por su eficiente e incansable colaboración en la búsqueda bibliográfica de esta Tesis.